

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

THIS PAGE BLANK (USPTO)



DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets ⁷ : A61K 31/35	A1	(11) Numéro de publication internationale: WO 00/03706 (43) Date de publication internationale: 27 janvier 2000 (27.01.00)
---	----	---

(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR99/01714

(22) Date de dépôt international: 13 juillet 1999 (13.07.99)

(30) Données relatives à la priorité:
98/09058 15 juillet 1998 (15.07.98) FR

(71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): LABORATOIRE L. LAFON [FR/FR]; 19, avenue du Professeur Cadiot, F-94701 Maisons Alfort (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (US seulement): DARRO, Francis [FR/BE]; Université de Bruxelles, Faculté de Médecine, Laboratoire d'Histologie - CP 620, Route de Lennik 808, B-1070 Bruxelles (BE). KISS, Robert [BE/BE]; Université de Bruxelles, Faculté de Médecine, Laboratoire d'Histologie - CP 620, Route de Lennik 808, B-1070 Bruxelles (BE). FRYDMAN, Armand [FR/FR]; Laboratoire L. Lafon, 19, avenue du Professeur Cadiot, F-94701 Maisons Alfort (FR).

(74) Mandataire: BOLENSKY, Michel; Cabinet Lavoix, 2, place d'Estienne d'Orves, F-75441 Paris Cedex 09 (FR).

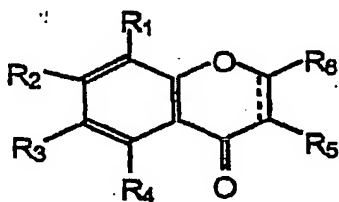
(81) Etats désignés: AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, UG, ZW), brevet eurasién (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée

Avec rapport de recherche internationale.

(54) Title: THERAPEUTIC COMPOSITION BASED ON FLAVONOIDS FOR USE IN THE TREATMENT OF TUMOURS WITH CYTOTOXIC AGENTS

(54) Titre: COMPOSITION THERAPEUTIQUE A BASE DE FLAVONOÏDES DESTINÉE A ÊTRE UTILISÉE DANS LE TRAITEMENT DES TUMEURS PAR DES AGENTS CYTOTOXIQUES



(I)

(57) Abstract

The invention concerns a composition having an activity on the proliferation of clonogenic cells in tumours and comprising a therapeutically efficient amount of a flavonoid, in particular a compound selected among the compounds of formula (I) wherein: R₁, R₂, R₃ and R₄, R₅ and R₆ are as defined in Claim 2. Said composition is designed for use in the treatment of tumours with cytotoxic agents.

(57) Abrégé

La présente invention concerne une composition ayant une activité sur la prolifération de cellules clonogènes dans les tumeurs et qui comprend une quantité thérapeutiquement efficace d'un flavonoïde, notamment d'un composé choisi parmi les composés de formule (I) dans laquelle R₁, R₂, R₃ et R₄, R₅ et R₆ sont tels que définis à la revendication 2. Cette composition est destinée à être utilisée au cours du traitement des tumeurs par des agents cytotoxiques.

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AL	Albanie	ES	Espagne	LS	Lesotho	SI	Slovénie
AM	Arménie	FI	Finlande	LT	Lituanie	SK	Slovaquie
AT	Autriche	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Sénégal
AU	Australie	GA	Gabon	LV	Lettonie	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaïdjan	GB	Royaume-Uni	MC	Monaco	TD	Tchad
BA	Bosnie-Herzégovine	GE	Géorgie	MD	République de Moldova	TG	Togo
BB	Barbade	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tadjikistan
BE	Belgique	GN	Guinée	MK	Ex-République yougoslave de Macédoine	TM	Turkménistan
BF	Burkina Faso	GR	Grèce	ML	Mali	TR	Turquie
BG	Bulgarie	HU	Hongrie	MN	Mongolie	TT	Trinité-et-Tobago
BJ	Bénin	IE	Irlande	MR	Mauritanie	UA	Ukraine
BR	Brazil	IL	Israël	MW	Malawi	UG	Ouganda
BY	Bélarus	IS	Islande	MX	Mexique	US	Etats-Unis d'Amérique
CA	Canada	IT	Italie	NE	Niger	UZ	Ouzbékistan
CF	République centrafricaine	JP	Japon	NL	Pays-Bas	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NO	Norvège	YU	Yougoslavie
CH	Suisse	KG	Kirghizistan	NZ	Nouvelle-Zélande	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	République populaire démocratique de Corée	PL	Pologne		
CM	Cameroon	KR	République de Corée	PT	Portugal		
CN	Chine	KZ	Kazakhstan	RO	Roumanie		
CU	Cuba	LC	Sainte-Lucie	RU	Fédération de Russie		
CZ	République tchèque	LI	Liechtenstein	SD	Soudan		
DE	Allemagne	LK	Sri Lanka	SE	Suède		
DK	Danemark	LR	Libéria	SG	Singapour		
EE	Estonie						

Composition thérapeutique à base de flavonoïdes destinée à être utilisée
dans le traitement des tumeurs par des agents cytotoxiques

La présente invention concerne l'utilisation de composés de type flavonoïde dans le traitement des cancers par des agents cytotoxiques.

Un cancer est un désordre des gènes somatiques au cours duquel des dysfonctionnements génétiques s'amplifient au fur et à mesure que le processus tumoral progresse de l'état de lésion précancéreuse à celui de transformation maligne, la tumeur cancéreuse devenant métastatique et souvent résistante aux médicaments cytotoxiques.

En dépit des efforts très importants conduits dans tous les pays développés, en particulier à travers des programmes de recherche expérimentale et clinique, la mortalité due aux différents cancers (tumeurs solides et néoplasies hématologiques) demeure inacceptablement élevée. Dans de nombreux pays, la mortalité par cancer est au second rang, juste après les maladies cardio-vasculaires.

En termes de cancers nouvellement diagnostiqués, la répartition entre tumeurs solides et néoplasies hématologiques (moëlle osseuse, sang, système lymphatique) montre que 9 cancers sur 10 sont des tumeurs solides. Au contraire de ce qui est observé en oncologie hématologique (succès thérapeutiques dans 40 à 90 % des cancers des cellules du sang), seulement un petit nombre de tumeurs solides avancées ou disséminées répondent aux seuls traitements chimiothérapeutiques. C'est en partie pour cette raison que la mortalité globale par cancer a cru aux U.S.A. entre 1973 et 1992.

Il n'est malheureusement pas sûr que cette tendance pourra s'inverser seulement par l'apparition, à côté de l'arsenal chimiothérapeutique établi, de nouveaux médicaments antitumoraux tels que les taxanes (paclitaxel et docetaxel) qui interfèrent avec la formation des microtubules (W.P. Mc Guire et al., Am. Intern. Med., 1989), les inhibiteurs de topoisomérases I dérivés de la camptothécine (topotecan et irinotecan), la vinorelbine (nouvel alcaloïde issu de la pervenche), la gemcitabine (nouvel antimétabolique cytotoxique), le raltitrexed (inhibiteur de la thymidylate synthétase) et la miltefosine (premier représentant de la famille des alkylphosphocholines). Ces traitements s'ajoutent, soit en première intention, soit en seconde intention, aux médicaments dont l'activité spécifique est maintenant bien reconnue comme la doxorubicine, le cisplatine, la vincristine, le méthotrexate, le 5-fluorouracile.

Un des plus difficiles problèmes actuels de la chimiothérapie anticancéreuse est dû au fait que de nombreuses populations de cellules malignes présentent une résistance importante aux substances cytotoxiques établies. Le plus souvent cette situation résulte de l'existence de gènes de multi-résistance ou de la fréquence de

mutations génétiques chez certains types de tumeurs. Ainsi, le traitement des cancers nécessite de nouvelles approches, complémentaires de celles actuellement mises en oeuvre, et destinées à mieux lutter contre l'extension et l'hétérogénéité de la charge tumorale et l'acquisition de la résistance "multi-drogues cytotoxiques".

Parmi ces nouvelles approches, certaines sont déjà prometteuses. C'est le cas de l'induction de l'apoptose, l'inhibition de l'angiogénèse tumorale et des processus métastatiques sans parler de la thérapie génique ou de l'immunothérapie.

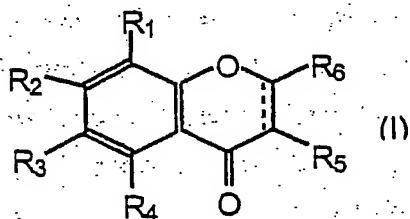
Les inventeurs se sont intéressés à une approche différente. L'objectif recherché était de rendre la population de cellules tumorales plus sensible aux traitements anticancéreux de référence afin d'atteindre un double bénéfice :

1) augmenter l'activité cytotoxique donc l'efficacité et

2) diminuer la fréquence et la sévérité de certains effets secondaires grâce à la réduction de posologie qui pourrait suivre l'induction de l'augmentation de l'efficacité anti-tumorale.

C'est cette stratégie qui est à l'origine de la découverte d'un mécanisme original provoqué par des substances - à faible pouvoir antitumoral ou dépourvues de ce pouvoir - mais capables d'induire une augmentation très significative de l'activité cytotoxique de médicaments anticancéreux éprouvés. Ce mécanisme original relève de la possibilité pour ces substances soit de stimuler le recrutement de cellules clonogènes au sein de la tumeur rendant celle-ci plus sensible au traitement conventionnel par des agents cytotoxiques, soit d'inhiber la prolifération de cellules clonogènes, contribuant ainsi à la régression de la tumeur.

La présente invention a ainsi pour objet l'utilisation dans le traitement des cancers avec au moins un antitumoral choisi parmi les agents cytotoxiques, d'un composé ayant une activité sur la prolifération de cellules clonogènes, choisi parmi les flavonoïdes et notamment les composés de formule :



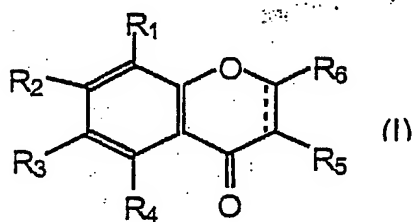
formule dans laquelle :

- R_1 , R_2 , R_3 et R_4 sont choisis indépendamment l'un de l'autre parmi H, OH, un groupe alkoxy en C_1 - C_4 , un groupe $-OCOR_7$, R_7 étant un groupe alkyle en C_1 - C_4 , au moins l'un des substituants R_1 , R_2 , R_3 ou R_4 étant autre que H et R_2 et R_3 pouvant former ensemble un groupe méthylènedioxy,

- 5 - R_5 est choisi parmi H, OH, un groupe alkoxy en C_1 - C_4 , et un groupe O-glycosyle,
 - R_6 est choisi parmi un groupe cyclohexyle, un groupe phényle et un groupe phényle 1 à 3 fois substitué par des groupes choisis parmi H, OH et un groupe alkoxy en C_1 - C_4 ,
 - et désigne soit une double liaison, soit une simple liaison.

10 Les agents cytotoxiques peuvent être utilisés à leur dose habituelle et dans ce cas, leur efficacité est améliorée, ou à des doses plus faibles compte tenu de l'augmentation de leur efficacité antitumorale.

La présente invention a également pour objet une composition ayant une activité sur la prolifération de cellules clonogènes en interférant avec la génération de cellules clonogènes, soit par stimulation de la prolifération et recrutement, soit par inhibition de la
 15 prolifération, comprenant une quantité thérapeutiquement efficace d'un flavonoïde et notamment d'un composé de formule I choisi parmi les composés de formule :



formule dans laquelle :

- 20 - R_1 , R_2 , R_3 et R_4 sont choisis indépendamment l'un de l'autre parmi H, OH, un groupe alkoxy en C_1 - C_4 , un groupe $-OCOR_7$, R_7 étant un groupe alkyle en C_1 - C_4 , au moins l'un des substituants R_1 , R_2 , R_3 ou R_4 étant autre que H et R_2 et R_3 pouvant former ensemble un groupe méthylènedioxy,
 - R_5 est choisi parmi H, OH, un groupe alkoxy en C_1 - C_4 et un groupe O-glycosyle,
 - R_6 est choisi parmi un groupe cyclohexyle, un groupe phényle et un groupe phényle 1 à
 25 3 fois substitué par des groupes choisis parmi H, OH et un groupe alkoxy en C_1 - C_4 ,
 - et désigne soit une double liaison, soit une simple liaison.

La présente invention a également pour objet l'utilisation d'un flavonoïde et notamment d'un composé de formule I telle que définie ci-dessus, pour la fabrication d'un médicament destiné à interférer (par induction ou inhibition) avec la génération de
 30 cellules clonogènes dans les tumeurs lors d'un traitement par au moins un agent cytotoxique.

Dans le traitement chimiothérapeutique des cancers par des agents cytotoxiques, les flavonoïdes et en particulier les composés de formule I peuvent être administrés au début des traitements chimiothérapeutiques soit en une fois, soit sur plusieurs jours au début de ces traitements (par exemple pendant 5 à 7 jours) et, en fonction du protocole chimiothérapeutique, au début de chaque cycle de traitement (par exemple pendant 2 à 5 jours) au cours de chaque cure.

Les composés de formule I sont avantageusement administrés par perfusion (généralement en 1 à 3 heures) à des doses de 5 à 50 mg/kg/jour ou 200 à 2000 mg/m²/jour.

Afin d'obtenir un effet maximal sur la production de cellules clonogènes, les flavonoïdes doivent être administrés de telle manière que les concentrations tissulaires obtenues soient les plus élevées qu'il est possible d'envisager.

Pour les protocoles de traitement dans les phases aiguës des cures, la voie intraveineuse est à privilégier en utilisant :

- des solutés de perfusion prêts à l'emploi (poches, flacons ...) destinés à être administrés tels quels par perfusion intraveineuse à l'aide d'une ligne de perfusion et selon le débit recommandé :

- des lyophilisats à remettre en solution pour la perfusion intraveineuse à l'aide des solutés pharmaceutiques connus de l'homme de l'art ;

- pour les traitements d'entretien, il est également possible d'envisager la voie orale lorsque le traitement de la chimiothérapie privilégie l'administration de cytostatiques par voie orale. A cette fin, pourront être utilisés des lyocs (pour absorption orale ou *perlinguale*), des comprimés à libération instantanée ou retardée, les solutions orales, les suspensions, les granulés, les gélules ...

Les composés de formule (I) sont pour leur majorité des composés d'origine naturelle ou sont des dérivés de composés d'origine naturelle. Comme exemples on peut citer :

- 1) des flavones telles que :

- la quercétine,
- la 4-hydroxyflavone,
- la 6-hydroxyflavone,
- la 7-hydroxyflavone,
- la 5-méthoxyflavone,
- la 6-méthoxyflavone,
- la 7-méthoxyflavone,

- la 2-cyclohexyl-5-hydroxy-chromone,
- la 2-cyclohexyl-6-hydroxy-chromone,
- la 2-cyclohexyl-7-hydroxy-chromone,
- la wogonine ou 5,7-dihydroxy 8-méthoxyflavone,
- l'acacétine ou 5,7-dihydroxy 4'-méthoxyflavone,
- la pédalitrine ou 5,6,3',4'-tétrahydroxy 7-méthoxyflavone,
- l'apigénine ou 5,7,4'-trihydroxyflavone,
- la lutéoline ou 5,7,3',4'-tétrahydroxyflavone,
- la baicaléine ou 5,6,7-trihydroxyflavone,
- la scutellareine ou 5,6,7,4'-tétrahydroxyflavone,
- la fisétine ou 7,3',4'-trihydroxy-flavonol,
- la robinétine ou 7,3',4',5'-tétrahydroxy-flavonol,
- le kaempférol ou 5,7,4'-trihydroxy-flavonol,
- le kaempféride ou 5,7-dihydroxy 4'-méthoxy-flavonol,
- le morin ou 5,7,2',4'-tétrahydroxy-flavonol,
- la myricétine ou 5,7,3',4',5'-pentahydroxy-flavonol,

2) des flavanolols tels que :

- l'aromadendrine ou 5,7,4'-trihydroxy-flavanolol,
- la fustine ou 7,3',4'-trihydroxy-flavanolol,
- l'hydroxyrobinétine ou 7,3',4',5'-tétrahydroxy-flavanolol,
- la taxifoline ou 5,7,3',4'-tétrahydroxy-flavanolol,

3) des flavanones tels que :

- la naringénine ou 5,6,4'-trihydroxy flavanone,
- la 7,4'-dihydroxy-flavanone,
- l'ériodictyol ou 5,7,3',4'-tétrahydroxy-flavanone,
- l'hespérétine ou 5,7-3'-trihydroxy-flavanone.

Les flavones sont les composés préférés.

Les agents cytotoxiques peuvent être choisis parmi :

- i) des agents intercalants, notamment la daunorubicine, l'épirubicine, l'idarubicine, la zorubicine, l'aclarubicine, la pirarubicine, l'acridine, la mitoxanthrone, l'actinomycine D, l'acétate d'epitillium ;
- ii) des agents alkylants choisis parmi les dérivés du platine (cisplatine, carboplatine, oxaliplatine) ;
- iii) un composé choisi parmi les autres groupes d'agents alkylants :
 - cyclophosphamide, ifosfamide, chlormétrine, melphalan, chlorambucil, estramustine,

- busulfan, mitomycine C,
- nitrosourées : BCNU (carmustine), CCNU (lomustine), fotémustine, streptozotocine,
- triazènes ou dérivés : procarbazine, dacarbazine,
- pipobroman,
- éthylène-imines : altretamine, triéthylène-thiophosphoramide,

iv) un composé choisi parmi les autres groupes d'agents anti-métaboliques :

- antifoliques : méthotrexate, raltitrexed,
- antipyrimidiques : 5-fluorouracil (5-FU), cytarabine (Ara-C),
- hydroxyurée
- antipuriques : purinéthol, thioguanine, pentostatine, cladribine
- inducteurs de la synthèse de nucléosides cytotoxiques : gemcitabine,

v) un composé choisi parmi les autres groupes d'agents tubulo-affins :

- vinca-alcaloïdes désorganisant le fuseau mitotique : vincristine, vinblastine, vindésine, navelbine
- agents bloquant la dépolymérisation du fuseau mitotique : paclitaxel, docetaxel
- agents induisant des cassures de l'ADN par inhibition de la topoisomérase II : étoposide, téniposide
- inhibiteurs de la topoisomérase I induisant des coupures de l'ADN : topotécan, irinotécan,

vi) un agent scindant, fragmentant l'ADN, telle la bléomycine,

vii) un des composés suivants ; plicamycine, L asparaginase, mitoguazone, dacarbazine,

viii) un stéroïde progestatif anticancéreux : médroxy-progestérone, mégestrol,

ix) un stéroïde oestrogénique anticancéreux : diéthylstilbestrol ; fosfestrol tétrasodique,

x) un anti-oestrogène : tamoxifène, droloxifène, raloxifène, amino-gluthétimide,

xi) un anti-androgène stéroïdien (ex cyprotérone) ou un anti-androgène non stéroïdien (flutamide, nilutamide).

En particulier, les composés de formule I peuvent être associés à tous les traitements par les agents cytotoxiques majeurs utilisés dans les polychimiothérapies des tumeurs solides tels :

- les agents alkylants : oxazophorines (cyclophosphamide, ifosfamide, chlorambucil, melphalan)
- les nitrosourées
- la mitomycine C

- les anti-métabolites comme le méthotrexate, le 5-FU, l'Ara-C, la capécitabine
- les agents interférant avec la tubuline : vinca-alcaloïdes (vincristine, vinblastine, vindésine, navelbine), les taxoïdes (paclitaxel, docétaxel), les dérivés des épipodophyllotoxines (étoposide, téniposide)
- 5 - la bléomycine
- les inhibiteurs de la topoisomérase I : topotécan, irinotécan.

De même, les composés de formule I peuvent être associés aux traitements par les agents cytotoxiques majeurs utilisés en oncohématologie pour le traitement des cancers du sang :

- 10 - maladie de Hodgkin : cyclophosphamide, méchloréthamine, chlorambucil, melphalan, ifosfamide, étoposide, doxorubicine, daunorubicine ;
- leucémies aiguës : méthotrexate, 6-mercaptopurine, cytarabine, vinblastine, vincristine, doxorubicine, daunorubicine, L-asparaginase ;
- lymphomes malins non hodgkiniens : méchloréthamine, chlorambucil, cyclophosphamide, melphalan, ifosfamide, méthotrexate, cytarabine, vinblastine, vincristine, étoposide, doxorubicine, daunorubicine, carmustine, lomustine, cisplatine ;
- 15 - leucémies lymphoïdes chroniques : méchloréthamine, chlorambucil, cyclophosphamide, melphalan, ifosfamide.

On donnera ci-après des résultats d'essais pharmacologiques mettant en évidence les propriétés des composés de formule (I) utilisés seuls ou en association avec des agents cytotoxiques.

25 1 - Interaction (stimulation ou inhibition de la prolifération) avec la génération de cellules clonogènes (test clonogénique)

Le test utilisé est celui décrit par Hamburger et al. (Science, 1977;197, 461-463) et Salmon et al. (New England J. Med., 298, 1321-1327). Une cellule est considérée clonogénique si elle possède la capacité de proliférer et de donner naissance à une colonie cellulaire. Les « human tumor stem cells » ou « cellules souches tumorales humaines » sont les cellules qui sont à l'origine des cellules néoplasiques qui constituent une tumeur donnée. Ces cellules souches tumorales sont responsables des processus de récives observables après résection chirurgicale des tumeurs primaires et sont également responsables de la formation des métastases. Au niveau d'une tumeur ou d'une lignée cellulaire tumorale, ces cellules souches clonogéniques se différencient des

autres cellules de la tumeur ou de la lignée cellulaire néoplasique considérée, par le fait qu'elles conservent leur capacité à proliférer en l'absence de tout support solide.

Dans ce test, les cellules tumorales sont mises en culture sur un support semi-solide constitué par de l'agar. Seules les cellules ne nécessitant pas de support solide pour leur croissance (c'est-à-dire les cellules très tumorigéniques appelées "anchorage-independent cells" par M.I. Dawson et al., Cancer Res. 1995 ; 55 : 4446-4451 ; également dénommées cellules clonogènes en référence à "clonal growth") sont capables de se développer sur un tel support à base d'agar. En effet, sur un tel milieu, les cellules normales -qui sont à croissance en "mode adhérent" ("anchorage-dependent cells" selon la terminologie de M.I. Dawson)- comme par exemple les fibroblastes, ne survivent pas. Au sein d'une population cellulaire tumorale, cultivée sur un tel support, ce sont ces cellules clonogènes (associées à un nombre illimité de divisions cellulaires et dont la prolifération est appelée par M.I. Dawson "anchorage-independent [clonal] growth") qui sont capables de croître. Le pourcentage de ces cellules clonogènes au sein d'une tumeur ou d'une lignée cellulaire varie entre 0,1% et 0,001%. Les cellules non-clonogènes (associées à un nombre limité de divisions cellulaires) ne se développent pas dans ce test car elles nécessitent un support solide pour leur croissance qui doit se faire en "mode adhérent" ("anchorage-dependent [adherent] growth", selon M.I. Dawson et al., Cancer Res. 1995 ; 55 : 4446-51).

L'influence de composés de formule (I) sur la croissance des colonies cellulaires obtenues en cultivant, par exemple, les lignées tumorales mammaires MCF7 et MXT et la lignée colorectale HT-29 sur le milieu de culture semi-liquide appelé "soft agar" a été mesurée. Sur un tel milieu, seules les cellules clonogènes appelées par M.I. Dawson "anchorage-independent (clonal) cells" survivent et se développent. La croissance de ces cellules en un tel mode "non adhérent" témoigne de leur degré de tumorigénicité. L'inhibition de la croissance de la taille d'une tumeur dans laquelle s'est développé un plus grand nombre de cellules clonogènes devient alors le témoin d'une activité cytotoxique renforcée.

A l'inverse, ce test peut aussi révéler qu'un composé est capable d'inhiber la génération/prolifération de cellules clonogènes, ce qui rend la tumeur moins apte à se développer, donc diminue la population de cellules tumorales.

Les lignées cellulaires tumorales étudiées sont maintenues en culture dans des boîtes falcon de 25 cm². Elles sont ensuite trypsinisées et les cellules bien dissociées les unes des autres. Le pourcentage de cellules vivantes est déterminé après coloration au bleu trypan. Une suspension cellulaire à la concentration de $5 \cdot 10^4$ à $15 \cdot 10^4$ cellules/ml

(selon le type cellulaire considéré) est préparée dans une solution d'agar à 0,3%. Ensuite, 200 µl de cette suspension sontensemencés dans des boîtes de pétri de 35 mm de diamètre, dans lesquelles sont déposés 3 ml d'une couche de base constituée d'une solution d'agar à 0,5%. Les 200 µl de suspension cellulaire sont à leur tour recouverts par 1,8 mL d'une couche supérieure constituée d'une solution d'agar à 0,3%. Les boîtes sont ensuite placées dans un incubateur à 37° C, 5% CO₂ et 70% d'humidité jusqu'au traitement. Ce dernier est effectué environ 1 à 2 heures après l'ensemencement. Les composés à tester sont préparés à une concentration 100 fois supérieure à la concentration souhaitée et 50 µl de ces solutions traitantes sont déposés sur la couche supérieure d'agar des boîtes correspondantes. Dans la présente étude, la concentration finale des produits testés est 10⁻⁶, 10⁻⁷ et 10⁻⁹ M. Les boîtes sont ensuite maintenues 21 jours dans l'incubateur. Au 21^e jour les boîtes sont traitées en déposant sur la couche supérieure 100 µl d'une solution de MTT (bromure de 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphényltetrazolinium à 1 mg/ml préparé avec du milieu RPMI 1640 pendant 3 h à 37°C. Après ce laps de temps, les colonies cellulaires sont fixées en ajoutant 2 ml de formol par boîte. Après 24 heures de fixation, le formol est évaporé et le nombre de colonies cellulaires colorées, donc constituées de cellules métaboliquement actives et dont la surface est supérieure à 100 µm², est déterminé à l'aide d'un microscope inversé.

Le nombre moyen de clones de cellules clonogènes, déterminé pour chaque condition expérimentale étudiée, est exprimé en pourcentage par rapport au nombre moyen de clones de cellules clonogènes comptabilisé dans la condition contrôle et posé égal à 100%. Ces valeurs, exprimées en pourcentage par rapport à la condition contrôle, sont pour la quercétine, consignées dans le Tableau I.

10

TABLEAU I

LIGNEES CELLULAIRES	Quercétine (en mole. l ⁻¹)	
	10 ⁻⁵	10 ⁻⁷
MCF7	67,4 ± 3,4 **	101,2 ± 3,2 NS
HT-29	45,6 ± 1,2 **	103,4 ± 2,2 NS
MXT	80,8 ± 3,6 **	93,4 ± 3,2 NS

- Les résultats récapitulés dans ce tableau représentent les valeurs moyennes ± l'erreur standard sur la moyenne (ESM) établies sur au moins 6 cupules

- Condition contrôle = 100%

- (NS : p>0,05; * : p<0,05; ** p<0,01; *** : p<0,001).

Sur les trois lignées cellulaires MCF7, HT-29 et MXT la quercétine est capable d'inhiber partiellement la prolifération des cellules clonogènes au sein de la tumeur c'est à dire d'induire une diminution significative du nombre de colonies de ces cellules par rapport à celui obtenu dans la condition contrôle (de 20% à 50 %), et contribue donc à rendre plus sensibles au traitement conventionnel par les agents cytotoxiques, les tumeurs dont elles sont issues.

2 - Activité cytotoxique au niveau des cellules non-clonogènes : "test MTT"

L'influence des composés de formule (I) sur les cellules non-clonogènes a été évaluée à l'aide du test colorimétrique MTT.

Le principe du test MTT est basé sur la réduction mitochondriale par les cellules vivantes métaboliquement actives du produit MTT (bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5 diphényltétrazolium) de couleur jaune en un produit de couleur bleue, le formazan. La quantité de formazan ainsi obtenue est directement proportionnelle à la quantité de cellules vivantes présentes dans le ou les puits de culture. Cette quantité de formazan est mesurée par spectrophotométrie.

Les lignées cellulaires sont maintenues en culture monocouche à 37° C dans des boîtes de culture à bouchon fermé contenant du milieu de base MEM 25 MM HEPES (Minimum Essential Medium). Ce milieu est bien adapté à la croissance d'une gamme

de cellules variées diploïdes ou primaires de mammifères. Ce milieu est ensuite additionné :

- d'une quantité de 5% de SVF (Sérum de Veau Foetal) décomplémenté à 56° C pendant 1 heure,

- de 0,6 mg/ml de L-glutamine,
- de 200 IU/ml de pénicilline,
- de 200 µg/ml de streptomycine,
- de 0,1 mg/ml de gentamicine.

Les 12 lignées cellulaires cancéreuses humaines qui ont été utilisées ont été obtenues auprès de l'*American Type Culture Collection* (ATCC, Rockville, MD, USA). Ces 12 lignées cellulaires sont :

- U-373MG (code ATCC : HTB-17) et U-87MG (code ATCC : HTB-14) qui sont deux glioblastomes,
- SW1088 (code ATCC : HTB-12) qui est un astrocytome,
- A549 (code ATCC : CCL-185) et A-427 (code ATCC : HTB-53) qui sont deux cancers du poumon non-à-petites-cellules,
- HCT-15 (code ATCC : CCL-225) et LoVo (code ATCC : CCL-229) qui sont deux cancers colorectaux,
- T-47D (code ATCC : HTB-133) et MCF7 (code ATCC : HTB-22) qui sont deux cancers du sein,
- J82 (code ATCC : HTB-1) et T24 (code ATCC : HTB-4) qui sont deux cancers de la vessie,
- PC-3 (code ATCC : CRL-1435) qui est un cancer de la prostate.

Au plan expérimental : 100 µl d'une suspension cellulaire contenant 20 000 à 50 000 (selon le type cellulaire utilisé) cellules/ml de milieu de culture sontensemencés en plaques multi-puits de 96 puits à fond plat et sont mis à incuber à 37°C, sous atmosphère comprenant 5% CO₂ et 70% d'humidité. Au bout de 24 heures d'incubation, le milieu de culture est remplacé par 100 µl de milieu frais contenant soit les différents composés à tester à des concentrations variant de 10⁻⁵ à 10⁻¹⁰ M soit le solvant ayant servi à la mise en solution des produits à tester (condition contrôle). Après 72 heures d'incubation dans les conditions précédentes, le milieu de culture est remplacé par 100 µl d'une solution jaunâtre de MTT dissous à raison de 1 mg/ml dans du RPMI 1640. Les

microplaques sont remises à incuber pendant 3 heures à 37°C puis centrifugées pendant 10 minutes à 400 g. La solution jaunâtre de MTT est éliminée et les cristaux de formazan bleu formés au niveau cellulaire sont dissous dans 100 µl de DMSO. Les microplaques sont ensuite mises sous agitation pendant 5 minutes. L'intensité de la coloration bleue résultant donc de la transformation du produit MTT jaune en formazan bleu par les cellules encore vivantes au terme de l'expérience est quantifiée par spectrophotométrie à l'aide d'un appareil de type *DYNATECH IMMUNOASSAY SYSTEM* aux longueurs d'onde de 570 nm et 630 nm correspondant respectivement aux longueurs d'ondes d'absorbance maximale du formazan et au bruit de fond. Un logiciel intégré au spectrophotomètre calcule les valeurs moyennes de densité optique ainsi que les valeurs de déviation standard (Dév. Std.) et d'erreur standard sur la moyenne (ESM).

A titre d'exemple, on donnera dans le tableau II les résultats de la densité optique moyenne, exprimés en pourcentage par rapport à la densité optique moyenne mesurée dans la condition contrôle (posée égale à 100%), obtenus – à titre d'exemple non limitatif – avec un flavonoïde : la quercétine, sur les 5 lignées cellulaires tumorales U-373MG, T24, LoVo, MCF7 et A549.

TABLEAU II

LIGNEES CELLULAIRES	Quercétine					
	10 ^{-5*}	10 ^{-6*}	10 ^{-7*}	10 ^{-8*}	10 ^{-9*}	10 ^{-10*}
U-373MG	96,4 ± 3,1 NS	105,2 ± 2,2 NS	104,1 ± 2,9 NS	98,5 ± 2,4 NS	101,5 ± 3,2 NS	97,7 ± 1,7 NS
T24	102,5 ± 0,7 NS	102,4 ± 1,7 NS	99,7 ± 2,0 NS	107,4 ± 3,8 NS	105,2 ± 2,0 NS	110,2 ± 2,4 **
LoVo	97,8 ± 3,1 NS	94,5 ± 2,2 NS	101,9 ± 4,7 NS	103,1 ± 2,1 NS	101,6 ± 3,0 NS	112,0 ± 4,2 *
MCF7	81,5 ± 2,5 ***	84,5 ± 2,3 ***	82,1 ± 2,1 ***	90,7 ± 3,8 NS	89,6 ± 2,0 **	103,8 ± 2,9 NS
A549	86,0 ± 3,6 *	100,3 ± 3,7 NS	94,9 ± 2,3 NS	98,2 ± 3,5 NS	97,3 ± 2,2 NS	97,7 ± 1,7 NS

- Concentrations exprimées en mol.l⁻¹

- xx ± yy = valeur moyenne ± erreur standard sur la moyenne

5 - Conditions contrôle = 100%

- (NS / p > 0,05 ; * : p < 0,05; ** : p < 0,01; p < 0,001).

Ces résultats montrent que la quercétine présente un pouvoir antitumoral faible. Ce produit, non cytotoxique, induit une inhibition de la prolifération cellulaire globale de ces
10 lignées seulement à la concentration de 10⁻⁵ M et cette inhibition ne dépasse pas 20 %.
Aux autres concentrations testées, seuls quelques effets marginaux peuvent être mis en évidence.

3. – Détermination de la dose maximale tolérée (DMT) :

15

L'évaluation de la dose maximale tolérée a été réalisée chez des souris B6D2F1/Jico âgées de 4 à 6 semaines. Les composés ont été administrés par voie intrapéritonéale à des doses croissantes s'échelonnant de 2,5 à 160 mg/kg. La valeur de la DMT (exprimée en mg/kg) est déterminée à partir de l'observation du taux de survie
20 des animaux sur une période de 14 jours après une administration unique du produit considéré. L'évolution pondérale des animaux est également suivie pendant cette période. Lorsque que la valeur de la DMT est supérieure à 160 mg/kg, la valeur de la DMT est assimilée à 160 mg/kg par défaut.

La quercétine est associée par défaut à une DMT égale à 160 mg/kg. Ce résultat souligne que les produits appartenant à la famille des flavonoïdes ne présentent pas de toxicité directe et peuvent être utilisés à concentrations tissulaires élevées, donc à des posologies fortes.

On donnera ci-après des exemples de modalité d'utilisation des composés de formule (I) dans des protocoles de mono ou polychimiothérapie par des agents cytotoxiques.

A. Tumeurs solides

1°/ Cancers du poumon

1.1. non à petites cellules (stade avancé) :

au protocole recommandé (T. Le Chevalier et al., J. Clin. Oncol. 1994 ; 12 : 360-367) sont ajoutées les perfusions intraveineuses d'un composé de formule I :

	dose	voie	Jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ , J ₈ , J ₁₅ , J ₂₂ , J ₂₉ , et J ₃₆
• navelbine	30 mg /m ² /jour	i.v.	J ₁ , J ₈ , J ₁₅ , J ₂₂ , J ₂₉ , et J ₃₆
• cisplatine	120 mg/m ²	i.v.	J ₁ et J ₂₉

Cette cure est à répéter 8 fois.

1.2. à petites cellules (stade avancé) :

- au protocole recommandé CAV ou VAC (B.J. Roth et al., J. Clin. Oncol. 1992 ; 10 : 282-291) sont ajoutées les perfusions de flavonoïde :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁
• cyclophosphamide	1000 mg /m ² bolus	i.v.	J ₁
• doxorubicine	40 à 50 mg/m ² bolus	i.v.	J ₁
• vincristine	1 à 1,4 mg/m ² bolus (max 2 mg)	i.v.	J ₁

Cette cure est à répéter 6 fois tous les 21 jours.

5. - au protocole recommandé Pt-E (B.J. Roth et al., J. Clin. Oncol. 1992 ; 10 : 282-291) sont ajoutées les perfusions de flavonoïde

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ - J ₅
• cisplatine	20 mg mg /m ² /jour perfusion de 20 à 60 minutes	i.v.	J ₁ - J ₅
• étoposide	80 mg/m ² /jour perfusion de 60 minutes	i.v.	J ₁ - J ₅

chaque cycle est répété tous les 21 jours et la cure comprend 6 cycles.

1.3. cancer bronchique non à petites cellules, localement avancé ou métastatique :

- monochimiothérapie :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ , J ₈ , J ₁₅ puis 1 semaine/repos
• gemcitabine	1000 mg/m ² /jour perfusion de 0,5 heure	i.v.	J ₁ , J ₈ , J ₁₅ puis 1 semaine/repos

la cure pouvant comporter la répétition de ce cycle de 4 semaines.

- association gemcitabine/cisplatine :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ - J ₈ , J ₈ - J ₁₅
• gemcitabine	1000 mg/m ² /jour perfusion de 0,5 heure	i.v.	J ₁ , J ₈ , J ₁₅
• cisplatine	20 mg/m ² /jour perfusion de 20-60 minutes	i.v.	J ₁

la cure comportant la répétition de ce cycle tous les 21 jours.

2°/ Cancers du sein

5

- protocole CMF en traitement adjuvant du cancer du sein opérable (G. Bonnadonna et al., N. Engl. J. Med. ;1976 ; 294 : 405-410) :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ à J ₁₄
• cyclophosphamide	100 mg /m ² /jour	orale	J ₁ à J ₁₄
• méthotrexate	40 mg/m ² bolus	i.v.	J ₁ et J ₈
• 5-FU	600 mg/m ²	i.v.	J ₁ et J ₈

chaque cycle est répété tous les 28 jours et la cure comporte 6 cycles.

- protocole AC (B. Fisher et al., J. Clin. Oncol. ; 1990 ; 8 : 1483 – 1496) en traitement adjuvant :

10

18

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁
• doxorubicine	60 mg /m ² bolus	i.v.	J ₁
• cyclophosphamide	600 mg/m ² bolus	i.v.	J ₁

chaque cycle est répété tous les 21 jours et la cure comporte 4 cycles.

- cancers du sein avec métastases :

- dans le protocole FAC (A.U. Buzdar et al., Cancer 1981 ; 47 : 2537 – 2542) et ses différentes adaptations, les perfusions de flavonoïde sont ajoutées selon le schéma (non limitatif) suivant :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₅ et J ₈ – J ₁₂ ou J ₁ – J ₅
• 5-FU	500 mg /m ² /jour bolus	i.v.	J ₁ et J ₈ ou J ₁ – J ₂
• doxorubicine	50 mg/m ² bolus	i.v.	J ₁ ou J ₁ et J ₂
• cyclophosphamide	500 mg/m ²	bolus i.v. ou orale	J ₁ J ₁

chaque cycle est répété toutes les 3 semaines jusqu'au diagnostic d'une nouvelle progression de la maladie.

19

- dans le protocole CAF (G. Falkson et al., Cancer 1985 ; 56 : 219 – 224) :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour <u>ou</u> 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₁₄
• cyclophosphamide	100 mg /m ² /jour	orale	J ₁ – J ₁₄
• doxorubicine	30 mg/m ² bolus	i.v.	J ₁ et J ₈
• 5-FU	500 mg/m ² bolus	i.v.	J ₁ et J ₈

chaque cycle est répété tous les 28 jours jusqu'au diagnostic d'une nouvelle progression de la maladie.

5

- dans le protocole CMF :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour <u>ou</u> 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₅ et J ₈ – J ₁₂
• cyclophosphamide	600 mg /m ² /jour bolus	i.v.	J ₁ et J ₈
• méthotrexate	40 mg/m ² /jour bolus	i.v.	J ₁ et J ₈
• 5-FU	600 mg/m ² /jour bolus	i.v.	J ₁ et J ₈

ce cycle est à répéter toutes les 3 à 5 semaines et la cure comporte 6 cycles.

- dans le protocole CMF-VP :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₅ J ₈ – J ₁₂ J ₁₅ – J ₁₉ J ₂₂ – J ₂₆
• cyclophosphamide	2 à 2,5 mg /kg/jour	orale	chaque jour
• méthotrexate	25 à 50 mg/m ² /jour	i.v.	J ₁ , J ₈ , J ₁₅ , J ₂₂
• 5-FU	300 à 500 mg/m ² /jour	i.v.	J ₁ , J ₈ , J ₁₅ , J ₂₂
• vincristine	0,6 à 1,2 mg/m ² /jour	i.v.	J ₁ , J ₈ , J ₁₅ , J ₂₂
• prednisone	30 mg/m ² /jour	orale	de J ₁ à J ₁₀

cette cure est à répéter toutes les 4 semaines.

- dans le protocole FEC :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₅ et J ₈ – J ₁₂
• 5-FU	600 mg /m ² /jour	i.v	J ₁ et J ₈
• épirubicine	50 mg/m ²	i.v.	J ₁
• cyclophosphamide	600 mg/m ²	i.v.	J ₁

5 cette cure est à répéter toutes les 3 semaines.

21

- dans le protocole MMC-VBC (C. Brambilla et al., Tumori, 1989 ; 75 : 141-144) :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/kg/jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 heure	i.v.	J ₁ – J ₅ et J ₁₅ – J ₁₉
• mitomycine C	10 mg /m ² bolus	i.v.	J ₁
• vinblastine	50 mg/m ² /jour bolus	i.v.	J ₁ et J ₁₅

cette cure est à répéter tous les 28 jours jusqu'au diagnostic de progression de la maladie.

5

- dans le protocole NFL (S.E. Jones et al., J. Clin. Oncol. 1991 ; 9 : 1736 – 1739) :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₅
• mitoxantrone	10 mg /m ² bolus	i.v.	J ₁
• 5-FU	1000 mg /m ² en perfusion de 24 heures	i.v.	J ₁ – J ₃
• leucovorine	100 mg/m ² bolus	i.v.	J ₁

la cure comporte deux cycles espacés de 21 jours puis nécessite une évaluation.

Les perfusions de flavonoïde peuvent également être associées au traitement des cancers du sein avec métastases lorsque un taxoïde est utilisé, par exemple:

10

- avec paclitaxel (F.A. Holmes et al., J. Natl Cancer Inst. 1991 ; 83 : 1797 – 1805) dans le traitement des formes avec métastases éventuellement résistantes aux anthracyclines :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ -J ₅
• paclitaxel	175 mg /m ² en perfusion de 3 à 24 heures	i.v	J ₁

Ce cycle est répété tous les 21 jours jusqu'à ce qu'une nouvelle progression de la maladie soit diagnostiquée.

5

- avec docetaxel (C.A. Hudis et al., J. Clin. Oncol. 1996 ; 14 : 58 –65), dans le cancer du sein localement avancé ou métastatique, résistant ou en rechute après chimiothérapie cytotoxique (ayant comporté une anthracycline) ou en rechute au cours d'un traitement adjuvant :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ -J ₅
• docetaxel	100 mg /m ² ou 60-100 mg/m ² en perfusion de 1 heure (ou de 24 heures)	i.v	J ₁

10

Ce cycle est répété tous les 21 jours pour une cure de 2 cycles ou jusqu'à apparition d'une progression de la maladie.

15

- dans les protocoles d'intensification de dose, associant une transplantation de cellules médullaires autologues et de cellules-souches du sang périphérique, en consolidation du traitement de première intention, par exemple :

- protocole CPB (W.P. Peters et al., J. Clin. Oncol. 1993 ; 11 : 132 – 1143), dans lequel la perfusion i.v. de cellules-souches a lieu les jours J₁, J₀ et J₁ :

23

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₈ à J ₁
• cyclophosphamide	1875 mg /m ² en perfusion de 1 heure	i.v	J ₈ à J ₄
• cisplatine	55 mg/m ² /jour en perfusion continue de 24 heures	i.v.	J ₈ à J ₄
• carmustine (BCNU)	600 mg/m ² /jour en perfusion de 2 heures	i.v.	J ₃

- protocole CTCb (K. Antman et al., J. Clin. Oncol. 1992 ; 10 : 102 – 110),
dans lequel la perfusion i.v. de cellules-souches a lieu le jour J₀:

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₇ à J ₁
• cyclophosphamide	1500 mg /m ² en perfusion continue de 24 heures (4 doses)	i.v	J ₇ à J ₃
• thiotepa	125 mg/m ² en perfusion continue de 24 heures(4 doses)	i.v.	J ₇ à J ₃
• carboplatine	200 mg/m ² en perfusion continue de 24 heures(4 doses)	i.v.	J ₇ à J ₃

- 5 - protocole CTM (L.E. Damon et al., J. Clin. Oncol. 1989 ; 7 : 560–571 et I.C. Henderson et al., J. Cellular Biochem. 1994 (Suppl 18B) : 95) dans lequel la perfusion i.v. de cellules-souches hématopoïétiques a lieu le jour J₀:

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₆ à J ₁₁
• cyclophosphamide	1500 mg /m ² /jour en perfusion de 1 heure	i.v.	J ₆ à J ₁₁
• thiotepa	150 mg/m ² /jour en perfusion de 2 heures	i.v.	J ₆ à J ₁₁
• mitoxantrone	10 - 15 mg/m ² en perfusion de 1 heure	i.v.	J ₆ à J ₁₁

3°/ Cancers gynécologiques

3.1 Cancer de l'ovaire :

- pour le traitement des carcinomes ovariens, en particulier métastatiques :

i) protocole PAC (G. A. Omura et al. J. Clin. Oncol. 1989 ; 7 : 457 – 465) : les perfusions de flavonoïdes sont administrées selon le schéma suivant :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₅
• cisplatine	50 mg /m ² (ou 40 – 90 mg/m ²) perfusion de 1 à 2 heures	i.v.	J ₁
• doxorubicine	50 mg/m ² bolus (ou 30 à 50 mg/m ²)	i.v.	J ₁
• cyclophosphamide	1000 mg/m ² perfusion de 1 à 2 heures (ou 200 à 600 mg/m ²)	i.v.	J ₁

ce cycle est répété tous les 21 à 28 jours et la cure comporte 8 cycles.

ii) protocole altretamine, d'après A. Marietta et al. (Gynecol. Oncol. 1990 ; 36: 93 -96) :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 - 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ - J ₅ J ₈ - J ₁₂
• altretamine	200 mg /m ² /jour divisés en 4 doses	orale	J ₁ - J ₁₅

la cure comportant deux cycles, espacés de 28 jours.

5

ii) protocole paclitaxel : les flavonoïdes peuvent être ajoutés au protocole de paclitaxel tel qu'il a été décrit par W.P. Mc Guire et al. (Ann. Intern. Med. 1989 ; 111 : 273 - 279) :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 - 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ - J ₃
• paclitaxel	135 mg /m ² perfusion de 3 heures ou de 24 heures	i.v.	J ₁

la cure comportant deux de ces cycles, espacés de 28 jours (avec évaluation à l'issue).

10

- pour le traitement des carcinomes ovariens métastatiques et réfractaires, les flavonoïdes peuvent être ajoutés au protocole de seconde intention, à base de topotécan :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₅
• topotecan	1,5 mg /m ² /jour perfusion de 0,5 heure	i.v.	J ₁ – J ₅

la cure comportant deux cycles, espacés de 21 jours (avec évaluation à l'issue)

d'après A.P. Kudelka et al. (J. Clin. Oncol. 1996 ; 14 : 1552 – 1557).

5 3.2 Tumeurs trophoblastiques :

- chez les patientes à faible risque, les flavonoïdes pourront être associés au protocole décrit par H. Takamizawa et al. (Semin. Surg. Oncol. 1987 ; 3 : 36 – 44) :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₅
• methotrexate (MTX)	20 mg /jour	i.m.	J ₁ – J ₅
• dactinomycine (DACT)	0,5 mg /jour en bolus	i.v.	J ₁ – J ₅

10 (protocole MTX-DATC).

3.3 Cancers de l'utérus :

- les flavonoïdes peuvent également être associés au protocole CAV (ou VAC) selon le schéma ci-après :

27

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₃
• cyclophosphamide	750 – 1200 mg/m ² en perfusion	i.v.	J ₁
• doxorubicine	45 – 50 mg/m ² en perfusion	i.v.	J ₁
• vincristine	1,4 mg/m ²	i.v.	J ₁

la cure comportant la répétition de ce cycle tous les 21 jours.

- dans le protocole FAP :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₅
• fluorouracile (5-FU)	600 mg/m ² /jour	i.v.	J ₁ , J ₈
• doxorubicine	30 mg/m ²	i.v.	J ₁
• cisplatine	75 mg/m ²	i.v.	J ₁

la cure comportant la répétition de ce cycle tous les 21 ou 28 jours.

5

4°/ Cancers du testicule et de la prostate

- les flavonoïdes peuvent également être associés aux protocoles du cancer des testicules :

28

protocole BEP :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₅
• bléomycine	30 mg/m ² en perfusion	i.v.	J ₁
• étoposide	100 mg/m ² /jour en perfusion	i.v.	J ₁ – J ₅
• cisplatine	20 mg/m ² /jour	i.v.	J ₁ – J ₅

la cure comportant 3 cycles, à raison de 1 cycle tous les 21 jours.

5°/ Cancers de la vessie

- les flavonoïdes peuvent être associés au protocole CISCA2 (aussi appelé PAC) :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₅
• cisplatine	50 mg/m ²	i.v.	J ₁
• cyclophosphamide	600 mg/m ² en perfusion	i.v.	J ₁
• doxorubicine	75 mg/m ² en perfusion	i.v.	J ₁

5

le cycle étant à répéter toutes les 3 semaines.

- dans le protocole MVAC (d'après CN Sternberg et I., J. Urol. 1988 ; 139 : 461 – 469) :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₃ J ₁₅ – J ₁₈ J ₂₂ – J ₂₅
• méthotrexate	30 mg/m ² bolus	i.v.	J ₁ , J ₁₅ , J ₂₂
• vinblastine	3 mg/m ²	i.v.	J ₂ ou J ₂ , J ₁₅ , J ₂₂
• doxorubicine	30 mg/m ² bolus	i.v.	J ₂
• cisplatine	70-100 mg/m ² perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ ou J ₂

ce cycle étant répété toutes les 4 à 5 semaines, au minimum pour 2 cycles.

5

6°/ Carcinomes naso-pharyngés / Cancers de la tête et du cou

- Les flavonoïdes peuvent être valablement associés aux protocoles de polychimiothérapie utilisés dans le traitement de ces cancers :

10

6.1 Cancers naso-pharyngés :

- protocole ABVD :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ –J ₃ J ₈ –J ₁₀ ou J ₁₅ –J ₁₇
• doxorubicine	30 mg/m ² /jour	i.v.	J ₁ et J ₈ ou J ₁₅
• bléomycine	10 mg/m ² /jour	i.v.	J ₁ et J ₈ ou J ₁₅
• vinblastine	6 mg/m ² /jour	i.v.	J ₁ et J ₈ ou J ₁₅
• dacarbazine	200 mg/m ² /jour	i.v.	J ₁ et J ₈ ou J ₁₅

la cure comportant 1 à 6 cycles répétés à raison de 1 cycle toutes les 4 semaines.

6.2 Cancers de la tête et du cou avec métastases :

- dans le protocole Pt-FU (ex : pour les cancers du pharynx) : d'après le DVAL Study Group (New Engl. J. M. 1991 ; 324 : 1685 – 1690) :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ –J ₅
• cisplatine	100 mg/m ² perfusion de 1 heure	i.v.	J ₁
• fluorouracile (5-FU)	1000 mg/m ² /jour perfusion continue	i.v.	J ₁ –J ₅

la cure comportant deux cycles, à raison de 1 cycle toutes les 3 semaines.

7°/ Sarcomes des tissus mous

- Les flavonoïdes peuvent être introduits dans un protocole tel que le protocole

CYVADIC :

- d'après H.M. Pinedo et al. (Cancer 1984 ; 53 : 1825) :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₅ J ₈ – J ₁₀ J ₁₅ – J ₁₇
• cyclophosphamide (Cy)	500 mg/m ² bolus	i.v.	J ₂
• vincristine (V)	1,5 mg/m ² /jour bolus	i.v.	J ₁ , J ₈ , J ₁₅
• doxorubicine (A)	50 mg/m ² bolus	i.v.	J ₂
• dacarbazine (DIC)	250 mg/m ² /jour perfusion de 15 minutes	i.v.	J ₁ – J ₅

la cure comportant la répétition de ce cycle toutes les 4 semaines, d'abord pour 2 cycles.

8°/ Cancer de la prostate hormono-refractaire, avec métastases

- dans le protocole VBL-estramustine, d'après G.R. Hudis et al. (J. Clin. Oncol. 1992 ; 10 : 1754 : 1761) :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₃ , J ₈ – J ₁₀ J ₁₅ – J ₁₇ , J ₂₂ – J ₂₄ J ₂₉ – J ₃₁ , J ₃₆ – J ₃₈
• vinblastine	4 mg/m ² /jour bolus	i.v.	J ₁ , J ₈ , J ₁₅ , J ₂₂ , J ₂₉ , J ₃₆
• estramustine	200 mg/m ² tid (600 mg/m ² /jour)	orale	chaque jour pendant 6 semaines

un cycle de traitement durant 6 semaines et étant suivi de 2 semaines d'intervalle libre.

9°/ Cancers des cellules germinales

i) pour les tumeurs de pronostic favorable :

- protocole Pt-E, d'après G.J. Bosl et al. (J. Clin. Oncol. 1988 ; 6 : 1231 – 1238)

5

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₅
• cisplatine (Pt)	20 mg/m ² /jour perfusion de 20 à 60 minutes	i.v.	J ₁ – J ₅
• étoposide (E)	100 mg/m ² /jour perfusion de 1 heure	i.v.	J ₁ – J ₅

la cure comportant 4 cycles, à raison de 1 cycle tous les 21 ou 28 jours.

ii) pour les tumeurs avec métastases :

- protocole PEB, d'après S.D. Williams et al. (N. Eng. J. Med. 1987 ; 316 : 1435–1440) :

10

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₅ J ₉ – J ₁₁ J ₁₈ – J ₁₈
• cisplatine (P)	20 mg/m ² /jour perfusion de 20 à 60 minutes	i.v.	J ₁ – J ₅
• étoposide (E)	100 mg/m ² /jour perfusion de 1 heure	i.v.	J ₂ , J ₉ , J ₁₆
• bléomycine (B)	30U (ou mg)/jour bolus	i.v.	J ₁ – J ₅

la cure comportant 4 cycles, à raison de 1 cycle tous les 21 jours.

10°/ Cancers du rein

- **carcinome rénal métastatique** : les flavonoïdes peuvent être introduits dans le protocole décrit par M. J. Wilkinson et al. (Cancer 1993 ; 71 : 3601-3604) :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₅ J ₈ – J ₁₅
• floxuridine	0,075 mg/kg/jour perfusion continue	i.v.	J ₁ – J ₁₄

5 la cure comportant deux cycles espacés de 28 jours.

- **néphroblastome** : les flavonoïdes peuvent être introduits dans le protocole DAVE :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₃ J ₈ – J ₁₀
• dactinomycine	0,6 mg/m ² /jour	i.v.	J ₁ , J ₈
• doxorubicine	30 mg/m ² /jour	i.v.	J ₁ , J ₈
• cyclophosphamide	200 mg/m ² /jour perfusion de 1 heure	i.v.	J ₁ , J ₈

à raison d'un cycle toutes les 3 à 4 semaines.

11°/ Cancers du tube digestif

11.1 Cancers de l'oesophage :

- les flavonoïdes peuvent être introduits dans le protocole FAP selon :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₃ J ₈ – J ₁₀
• 5-fluorouracile (5-FU)	600 mg/m ²	i.v.	J ₁ , J ₈
• doxorubicine	30 mg/m ²	i.v.	J ₁
• cisplatine	75 mg/m ²	i.v.	J ₁

ce cycle étant répété toutes les 3 à 4 semaines.

11.2 Cancers de l'estomac

- dans les carcinomes gastriques avancés et/ou avec métastases :
 - protocole EAP (d'après P. Preusser et al. , J. Clin. Oncol. 1989 ; 7 : 1310) :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₅ , J ₈ – J ₁₀
• étoposide	120 mg/m ² /jour perfusion de 1 heure	i.v.	J ₃ , J ₄ , J ₅ ou J ₄ – J ₆
• doxorubicine	20 mg/m ² /jour bolus	i.v.	J ₁ , J ₇
• cisplatine	40 mg/m ² /jour perfusion de 1 heure	i.v.	J ₂ , J ₈

à raison de 1 cycle tous les 28 jours.

- protocole FAMtx : d'après J.A. Wils et al. (J. Clin. Oncol. 1991 ; 89 : 827):

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₃
• fluorouracile (5-FU) (F)	1500 mg/m ² bolus 1 heure après le méthotrexate	i.v.	J ₁
• doxorubicine (A)	30 mg/m ² bolus	i.v.	J ₁₅
• méthotrexate (Mtx)	1500 mg/m ² perfusion de 30 minutes	i.v.	J ₁

la cure comportant d'abord deux cycles, espacés de 28 jours.

5

- chez certains malades, ce protocole ou sa variante (l'épirubicine remplaçant la doxorubicine) pourront être utilisés selon le schéma suivant :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₃
• fluorouracile (5-FU)	1500 mg/m ²	i.v.	J ₁
• doxorubicine (A) ou • épirubicine (A)	30 mg/m ² bolus 60 mg/m ² bolus	i.v. i.v.	J ₁ = FAMTx J ₁ = FEMTx
• méthotrexate (à perfuser avant le 5-FU)	1500 mg/m ²	i.v.	J ₁
• leucovorine	15 mg/m ² /jour	orale	J ₂ – J ₄

12°/ Cancers colo-rectaux

- les flavonoïdes peuvent être introduits dans le protocole de traitement adjuvant FU-Levamisole du cancer colo-rectal (d'après C.G. Moertel et al., N. Eng. J. Med. 1990 ; 322 : 352) :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₅ J ₂₉ – J ₃₁
• 5-fluorouracile	450 mg/m ² /jour bolus	i.v.	J ₁ – J ₅
• 5-fluorouracile	450 mg/m ² bolus	i.v.	J ₂₉
• lévamisole	50 mg tid	orale	3 jours/semaine une semaine sur deux

le traitement en bolus par le 5-FU étant répété chaque semaine après la phase d'induction J₁ – J₅, pendant 52 semaines ; celui par un flavonoïde

étant répété sur le même rythme, le jour du bolus de 5-FU puis les 2 jours suivants.

- pour le traitement du cancer colo-rectal, refractaire au traitement par 5-fluorouracile (5-FU) et avec métastases :

- d'après M.L. Rothenberg et al. (J. Clin. Oncol. 1996 ; 14 : 1128-1135) :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₃ , J ₈ – J ₁₀ , J ₁₅ – J ₁₇ , J ₂₂ – J ₂₄
• irinotecan	125 mg/m ² /jour	i.v.	J ₁ , J ₈ , J ₁₅ , J ₂₂

la cure comportant deux cycles, espacés de 42 jours.

13°/ Sarcomes de Kaposi

- les flavonoïdes peuvent être associés aux deux protocoles utilisant des antracyclines formulées en liposomes :

1) protocole décrit par P.S. Gill et al. (J. Clin. Oncol. 1995 ; 13 : 996-1003) et C.A. Presant et al. (Lancet 1993 ; 341 : 1242-1243) :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₃ et J ₁₅ – J ₁₇
• daunorubicine liposomale	20 mg/m ² /jour perfusion de 1 heure	i.v.	J ₁ , J ₁₆

la cure comportant deux cycles répétés à 28 jours d'intervalle avant d'évaluer les effets.

ii) protocole de M. Harrison et al. (J. Clin. Oncol. 1995 ; 13 : 914-920) :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₃
• doxorubicine liposomale	20 mg/m ² perfusion de 30 minutes	i.v.	J ₁

la cure comportant deux cycles répétés à 28 jours d'intervalle avant d'évaluer les effets.

5

14°/ Mélanomes métastatiques

- les flavonoïdes peuvent également être incorporés aux protocoles combinés de traitement des mélanomes malins métastatiques :

- protocole DTIC/TAM : d'après G. Cocconi et al. (N. Eng. J. Med. 1992 ; 327 : 516), la cure comprenant la répétition de 4 cycles, à raison de 1 cycle tous les 21 jours, selon le schéma ci-après :

10

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₅
• dacarbazine (DTIC)	250 mg/m ² /jour perfusion [15 à 30 min. si cathéter central] ou [30 min. si perfusion périphérique dans 250 ml]	i.v.	J ₁ – J ₅
• tamoxifen (TAM)	20 mg/m ² /jour	orale	J ₁ – J ₅

la cure comportant 4 cycles à raison de 1 cycle tous les 21 jours.

15°/ Carcinome neuroendocrine

- les flavonoïdes peuvent être associés au protocole décrit par C.G. Moertel et al. (Cancer 1991 ; 68 : 227) :

- protocole Pt-E :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₃
• étoposide	130 mg/m ² /jour perfusion de 1 heure	i.v.	J ₁ – J ₃
• cisplatine	45 mg/m ² /jour perfusion de 1 heure	i.v.	J ₂ , J ₃

la cure comportant deux cycles répétés tous les 28 jours.

16°/ Cancer du pancréas

- adéno-carcinome pancréatique de stade avancé : les flavonoïdes peuvent être associés au traitement par gemcitabine, selon le protocole de M. Moore et al. (Proc. Am. Soc. Clin. Oncol. 1995 ; 14 : 473) :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₃ , J ₈ – J ₁₀ , J ₁₅ , J ₂₂ , J ₂₉ , J ₃₆ , J ₄₃ , J ₅₇
• gemcitabine	1000 mg/m ² perfusion de 0,5 heure	i.v.	J ₁ , J ₈ , J ₁₅ , J ₂₂ , J ₂₉ , J ₃₆ , J ₄₃ , puis J ₅₇ puis une fois/semaine pendant 3 semaines puis 1 semaine repos et évaluation

B. Onco-hématologie**1° Leucémies aigues de l'adulte****1.1. Leucémie lymphoblastique aigue :****1.1.1. Protocole de Linker**

Les flavonoïdes peuvent être ajoutés aux protocoles de Linker – Chimiothérapie d'induction et chimiothérapie de consolidation . (voir C.A. Linker et al. Blood 1987 ; 69 : 1242-1248 et C.A. Linker et al. Blood 1991 ; 78 : 2814-2822) selon les schémas suivants :

1) chimiothérapie d'induction :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₅ , J ₈ – J ₁₂ , J ₁₅ – J ₁₉
• daunorubicine	50 mg/m ² bolus toutes les 24 heures (30 mg/m ² chez les patients de + de 50 ans)	i.v.	J ₁ , J ₂ , J ₃
• vincristine	2 mg bolus	i.v.	J ₁ , J ₈ , J ₁₅ , J ₂₂
• prednisone	60 mg/m ² /jour	orale	J ₁ – J ₂₈
• L-asparaginase	6000 U/m ²	i.m.	J ₁₇ – J ₂₈

ii) chimiothérapie de consolidation (régime A) :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₅ , J ₈ – J ₁₂
• daunorubicine	50 mg/m ² bolus toutes les 24 heures	i.v.	J ₁ , J ₂
• vincristine	2 mg bolus	i.v.	J ₁ , J ₈
• prednisone	60 mg/m ² /jour divisés en 3 doses	orale	J ₁ – J ₁₄
• L-asparaginase	12000 U/m ²	i.m.	J ₂ , J ₄ , J ₇ , J ₉ et J ₁₄

la cure de consolidation A comprend 4 cycles consécutifs tels que celui décrit ci-dessus = Cycles 1, 3, 5 et 7.

5

iii) chimiothérapie de consolidation (régimes B et C) :

Les régimes décrits ci-dessous correspondent aux cycles de consolidation 2, 4, 6 et 8 (régime B) et 9 (régime C), décrits par C.A. Linker et al. :

régime B :	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₅ , J ₈ – J ₁₂
• Ara-C	300 mg/m ² perfusion de 2 heures	i.v.	J ₁ , J ₄ , J ₈ , J ₁₁
• téniposide	165 mg/m ² perfusion de 2 heures (4 cycles)	i.v.	J ₁ , J ₄ , J ₈ , J ₁₁

régime C :	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₅
• méthotrexate	690 mg/m ² perfusion continue de 42 heures	i.v.	J ₁ – J ₂
• leucovorin	15 mg/m ² toutes les 6 heures	orale	J ₂ – J ₅

5 1.1.2. Protocole de Hoelzer

Les flavonoïdes pourront être ajoutés aux cytotoxiques de ce protocole de polychimiothérapie (D. Hoelzer et al., Blood 1984 ; 64 : 38-47, D. Hoelzer et al., Blood 1988 ; 71 : 123-131) selon le schéma suivant :

i) chimiothérapie d'induction / Phase 1 :

10

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₅ , J ₈ – J ₁₂ , J ₁₅ – J ₁₉
• daunorubicine	25 mg/m ²	i.v.	J ₁ , J ₈ , J ₁₅ , J ₂₂
• vincristine	1,5 mg/m ² (maximum 2 mg)	i.v.	J ₁ , J ₈ , J ₁₅ , J ₂₂
• prednisone	60 mg/m ²	orale	J ₁ – J ₂₈
• L-asparaginase	5000 U/m ² (maximum 2 mg)	i.m.	J ₁ – J ₁₄

43

ii) chimiothérapie d'induction / Phase 2 :

La phase 2 de l'induction pourra être réalisée comme suit :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₂₉ – J ₃₃ , J ₃₆ – J ₄₀ , J ₄₃ – J ₄₇
• cyclophosphamide	650 mg/m ² (maximum 1000 mg)	i.v.	J ₂₉ , J ₄₃ , J ₅₇
• cytarabine	75 mg/m ² /jour perfusion de 1 heure	i.v.	J ₃₁ – J ₃₄ , J ₃₈ – J ₄₁ , J ₄₅ – J ₄₈ , J ₅₂ – J ₅₅
• mercaptopurine	60 mg/m ²	orale	J ₂₉ – J ₅₇
• methotrexate	10 mg/m ² /jour (maximum 15 mg)	i.v.	J ₃₁ , J ₃₈ , J ₄₅ , J ₅₂

5 iii) chimiothérapie de ré-induction / Phase 1 :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₅ , J ₈ – J ₁₂ , J ₁₅ – J ₁₉ , J ₂₂ – J ₂₈
• doxorubicine	25 mg/m ² /jour	i.v.	J ₁ , J ₈ , J ₁₅ , J ₂₂
• dexaméthasone	10 mg/m ² /jour	orale	J ₁ – J ₂₈
• vincristine	1,5 mg/m ² /jour (maximum 2 mg)	orale	J ₁ , J ₈ , J ₁₅ et J ₂₂

iv) chimiothérapie de ré-induction / Phase 2 :

44

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₃₁ – J ₃₅ , J ₃₈ – J ₄₂
• cyclophosphamide	650 mg/m ² (maximum : 1000 mg)	i.v.	J ₂₉
• cytarabine	75 mg/m ²	i.v.	J ₃₁ – J ₃₄ , J ₃₈ – J ₄₁
• thioguanine	60 mg/m ²	orale	J ₂₉ – J ₄₂

1.2. Leucémies myéloïdes aiguës :

1.2.1. Traitement de l'adulte de tout âge

Les flavonoïdes peuvent être ajoutés, selon le schéma ci-dessous, au traitement incorporant la dose standard de cytarabine antérieurement décrit par R.O. Dilleman et al. (Blood, 1991 ; 78 : 2520-2526), Z.A. Arlin et al. (Leukemia 1990 ; 4 : 177-183) et P.H. Wiernik et al. (Blood 1992 ; 79 : 313-319) :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₁₂
• cytarabine	100-200 mg/m ² /jour en perfusion continue	i.v.	J ₁ – J ₇
• daunorubicine	45 mg/m ² /jour en bolus (30 mg/m ² /jour si âge ≥ 60 ans)	i.v.	J ₁ – J ₃ , ou J ₈ – J ₁₀
ou • mitoxantrone	12 mg/m ² en bolus quotidien	i.v.	J ₁ – J ₃
ou • idarubicine	13 mg/m ² en bolus quotidien	i.v.	J ₁ – J ₃

1.2.2. Traitement de l'adulte d'âge inférieur à 60 ans

i) chimiothérapie d'induction :

Ce cycle d'induction incorpore l'administration de cytarabine à forte dose selon le schéma suivant :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₁₀
• Ara-C (cytarabine)	2000 mg/m ² /jour en perfusion de 2 heures, toutes les 12 heures	i.v.	J ₁ – J ₆
• Daunorubicine	60 mg/m ² /jour en perfusion continue de 24 heures	i.v.	J ₄ – J ₆
Ou • Cytarabine	3000 mg/m ² /jour en perfusion de 1 heure, toutes les 12 heures	i.v.	J ₁ – J ₆
• Daunorubicine	45 mg/m ² bolus toutes les 24 heures	i.v.	J ₇ – J ₉

(afin de réduire le risque de toxicité S.N.C., en cas d'insuffisance rénale, ajuster la posologie de cytarabine à la clairance de la créatinine)

d'après L.E. Damon et al. (Leukemia 1994 ; 8 : 535-541), G.L. Phillips et al. (Blood 1991 ; 77 : 1429-1435) et G. Smith et al. (J. Clin. Oncol. 1997 ; 15 : 833-839).

ii) chimiothérapie de consolidation :

Le cycle, décrit ci-après, sera répété 8 fois, à raison de 1 cycle toutes les 4 à 6 semaines (d'après R.J. Mayer et al., N. Engl J. Med. 1994 ; 331 : 896-903) :

46

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₅
• cytarabine	3000 mg/m ² en perfusion de 3 heures toutes les 12 heures (4 cycles)	i.v.	J ₁ , J ₃ , J ₅
puis • cytarabine	100 mg/m ² /jour toutes les 12 heures	s.c.	J ₁ – J ₅
• daunorubicine	45 mg/m ² bolus (4 cycles)	i.v.	J ₁

iii) chimiothérapie de consolidation (avec forte dose de cytarabine) :

Le cycle, décrit ci-après, devra être répété 2 fois et est adapté d'après G.L. Phillips et al. (Blood 1991 ; 77 : 1429-1435) ; S.N. Wolff et al. (J. Clin. Oncol. 1989 ; 7 : 1260 –1267) ; R.J. Mayer et al. (N. Engl J. Med. 1994 ; 331 : 896-903) :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₁₀
• cytarabine	3000 mg/m ² 1 heure toutes les 12 heures	i.v.	J ₁ – J ₈
• daunorubicine	30-45 mg/m ² /jour bolus 1 fois/jour	i.v.	J ₇ – J ₉

1.2.3. Traitement de l'adulte d'âge égal ou supérieur à 60 ans

Les flavonoïdes pourront être ajoutés aux protocoles de chimiothérapies de consolidation ci-après :

i) selon R.O. Dillman et al. (Blood 1991 ; 78 : 2520-2526), Z.A. Arlin et al. (Leukemia 1990 ; 4 : 177-183), P.H. Wiernik et al. (Blood 1992 ; 79 : 313-319) :

47

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₈
• cytarabine (Ara-C)	100-200 mg/m ² perfusion continue de 24 heures	i.v.	J ₁ – J ₅
• daunorubicine	30-45 mg/m ² /jour bolus	i.v.	J ₁ , J ₂
Ou • mitoxantrone	12 mg/m ² /jour bolus	i.v.	J ₁ , J ₂
Ou • idarubicine	13 mg/m ² /jour bolus	i.v.	J ₁ , J ₂

ii) selon R.J. Mayer et al. (N. Engl. J. Med. 194 ; 331 : 896-903) :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₈
• cytarabine	100 mg/m ² perfusion continue de 24 heures (4 cycles)	i.v.	J ₁ – J ₅
Puis • cytarabine	100 mg/m ² toutes les 12 heures	s.c.	J ₁ , J ₅
• daunorubicine	45 mg/m ² /jour bolus (4 cycles)	i.v.	J ₁

iii) selon C.A. Linker et al. (Blood 1993 ; 81 : 311-318), N. Chao et al. (Blood 1993 ; 81 : 319-323) et A.M. Yeager et al. (N. Eng. J. Med. 1986 ; 315 : 145-147) :

Ce protocole comprend une transplantation de moëlle osseuse autologue (pratiquée le jour J₀) :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₇ – J ₂
• busulfan	1 mg/kg qid (au total 16 doses)	orale	J ₇ à J ₄
• étoposide	60 mg/kg/jour perfusion de 10 heures	i.v.	J ₃

5 ou

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₉ – J ₁
• busulfan	1 mg/kg qid	orale	J ₉ à J ₆
• cyclophosphamide	50 mg/kg/jour perfusion de 1 heure	i.v.	J ₅ à J ₂

iv) en cas de transplantation de moëlle osseuse allogène HLA-compatible selon:

P.J. Tutscha et al. Blood 1987 ; 70 : 1382-1388,

F.R. Applebaum et al., Ann. Int. Med. 1984 ; 101 : 581-588 :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₇ – J ₁
• busulfan	1 mg/kg qid (au total 16 doses)	orale	J ₇ à J ₄
• cyclophosphamide	60 mg/kg/jour perfusion de 1 heure	i.v.	J ₃ à J ₂

2°/ Leucémies chroniques de l'adulte

2.1 Leucémie myéloïde chronique

En phase myéloblastique, les flavonoïdes peuvent être ajoutés au traitement HU-Mith, décrit par C.A. Koller et al. (N. Engl. J. med. 1986 ; 315 : 1433-1438) :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₅ J ₈ – J ₁₂ J ₁₅ – J ₁₉ J ₂₂ – J ₂₆
• hydroxyurée	500 mg/jour	orale	tous les jours
• mithramycine	25µg/kg/jour perfusion de 2-4 heures	i.v.	quotidien pendant 3 semaines puis 3 fois/semaine

2.2 Leucémie lymphocytaire chronique

2.2.1 Protocole FCG-CLL

Les flavonoïdes peuvent être ajoutés aux combinaisons "chlorambucil pulsé" telles que décrites par E. Kimby et al. (Leuk. Lymphoma 1991 ; 5 (Suppl.) 93-96) et par le FCGCLL (Blood 1990 ; 75 : 1422-1425) :

50

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour <u>ou</u> 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₅ , J ₈ – J ₁₂ , J ₁₅ – J ₂₂
• chlorambucil	0,1 mg/kg/jour	orale	1 fois/jour
<u>ou</u> • chlorambucil	0,4 mg/kg/jour tous les 14 jours	orale	J ₁
<u>et</u> • prednisone	75 mg/jour	orale	J ₁ – J ₃

2.2.2 Protocole fludarabine-CdA

d'après H.G. Chun et al. (J. Clin. Oncol. 1991 ; 9 : 175-188); M.J. Keating et al. (Blood 1989 ; 74 : 19-25 / J. Clin. Oncol. 1991 ; 9 : 44-49) et A. Saven et al. (J. Clin. Oncol. 1995 ; 13 : 570-574) :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour <u>ou</u> 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₈ (1 fois/mois pour 6 à 12 cycles)
• fludarabine	25-30 mg/m ² /jour perfusion de 30 minutes [toutes les 4 semaines pour 6 à 12 cycles]	i.v.	J ₁ – J ₅
<u>ou</u> • cladibrine	0,09 mg/kg/jour en perfusion continue [1 cycle tous les 28 à 35 jours pour 1 à 9 cycles (médiane : 4 cycles)]	i.v.	J ₁ – J ₇

3° Maladies lymphoprolifératives

3.1 Maladie de Hodgkin

Les flavonoïdes peuvent être incorporés aux protocoles de polychimiothérapie utilisés classiquement pour le traitement du lymphome de Hodgkin :

3.1.1 Protocole AVDB

d'après G. Bonnadonna et al. (Cancer Clin. Trials 1979 ; 2 : 217-226) et G.P. Canellos et al. (N. Engl. J. Med. 1993 ; 327 : 1478-1484) :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ –J ₃ , J ₁₅ –J ₁₈
• doxorubicine (A)	25 mg/m ² bolus	i.v.	J ₁ , J ₁₅
• bléomycine (B)	10 U/m ² bolus	i.v.	J ₁ , J ₁₅
• vinblastine (V)	6 mg/m ² bolus	i.v.	J ₁ , J ₁₅
• dacarbazine (D)	375 mg/m ² bolus	i.v.	J ₁ , J ₁₅

la cure comportant 6 à 8 cycles, à raison de 1 cycle tous les 28 jours.

3.1.2 Protocole MOPP/ABVD

d'après G. Bonnadonna et al. (Ann. Intern. Med. 1986 ; 104 : 739-746) et G. P. Canellos et al. (N. Engl. J. Med. 1993 ; 327 : 1478-1484) :

Le protocole MOPP doit être alterné avec le protocole ABVD (cf. § 3.1.1) tous les 28 jours et la cure comporte 6 cycles :

Protocole MOPP :			
	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ –J ₃ , J ₈ –J ₁₁ et J ₁₄ –J ₁₇
• mechlorethamine (M)	6 mg/m ² bolus	i.v.	J ₁ , J ₈
• vincristine (O)	1,4 mg/m ² bolus (pas de maximum)	i.v.	J ₁ , J ₈
• procarbazine (P)	100 mg/m ² /jour	orale	J ₁ –J ₁₄
prednisone (P)	40 mg/m ² /jour	orale	J ₁ –J ₁₄

3.1.3 Protocole Stanford V

d'après N.L. Bartlett et al. (J. Clin. Oncol. 1995 ; 13 : 1080-1088) :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₅ J ₈ – J ₁₂ J ₁₅ – J ₁₉ J ₂₂ – J ₂₆
• doxorubicine	25 mg/m ²	i.v.	J ₁ , J ₁₅
• vinblastine	6 mg/m ² bolus (4mg/m ² au cours du cycle 3 si âge ≥ 50 ans)	i.v.	J ₁ , J ₁₅
• mechlorethamine (M)	6 mg/m ² bolus	i.v.	J ₁
• vincristine	1,4 mg/m ² bolus (dose max : 2 mg) [1 mg/m ² au cours du cycle 3 si âge ≥ 50 ans)	i.v.	J ₁ , J ₂₂
• bléomycine	5 U/m ²	i.v.	J ₈ , J ₂₂
• étoposide	60 mg/m ²	orale	J ₁₅ , J ₁₆
• prednisone	40 mg/m ² /jour	orale	1/fois semaine (semaines 1-9)

la cure comportant 3 cycles à raison de 1 cycle tous les 28 jours.

3.1.4 Protocole EVA

d'après G.P. Canellos et al. (Proc. Am. Soc. Clin. Oncol. 1991 ; 10 : 273) :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₅
• étoposide (E)	100 mg/m ² perfusion de 2 heures	orale	J ₁ , J ₂ , J ₃
• vinblastine (V)	6 mg/m ² bolus	i.v.	J ₁
• doxorubicine (A)	50 mg/m ² bolus	i.v.	J ₁

la cure comportant 6 cycles, à raison de 1 cycle tous les 28 jours.

3.1.5 Protocole B-CAVE

d'après W.G. Harker et al. (Ann. Intern. Med. 1984 ; 101 : 440-446) :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₃
• bléomycine (B)	5 U/m ² bolus	i.v.	J ₁
• lomustine (CCNU)	100 mg/m ²	orale	J ₁
• doxorubicine (A)	60 mg/m ² bolus	i.v.	J ₁
• vinblastine (Ve)	5 mg/m ² bolus	i.v.	J ₁

la cure comportant 8 cycles, à raison de 1 cycle tous les 28 jours.

3.2. Lymphomes non hodgkiniens.

3.2.1. de bas grade de malignité

i)- protocole CVP

- d'après C.M. Bagley et al. (Ann. Intern. Med. 1972 ; 76 : 227 – 234) et C.S. Portlock et al. (Blood 1976 ; 47 : 747 – 756)

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₅
• cyclophosphamide (C)	300-400 mg/m ² /jour	orale	J ₁ , J ₅
• vincristine (V)	1.4 mg/ m ² bolus (max : 2 mg)	i.v.	J ₁
• prednisone (P)	100 mg/m ² /jour	orale	J ₁ – J ₅

Ce cycle est répété tous les 21 jours jusqu'à réponse maximale

ii)- protocole I-COPA

- d'après RV Smalley et al. (N. Eng. J. Med. 1992 ; 327 : 1336 – 1341)

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour <u>ou</u> 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₅
• cyclophosphamide (C)	600 mg/m ² jour	i.v.	J ₁
• vincristine (O)	1.2 mg/m ² bolus (max : 2 mg)	i.v.	J ₁
• prednisone (P)	100 mg/m ² /jour	i.v.	J ₁ – J ₅
• doxorubicine (A)	50 mg/m ² bolus	i.v.	J ₁
• interféron-alpha (I)	6 MU/m ²	i.m.	J ₂₂ – J ₂₈

La cure comprend 8 à 10 cycles, à raison d'un cycle tous les 28 jours.

iii)- protocole fludarabine-CdA

5 - d'après P. Solol-Celigny et al. (Blood 1994 ; 84 (Supp. 1) : 383a), H. Hoeschster et al. ; (Blood 1994 ; 84 (Suppl. 1) : 564a et A.C. Kay (J. Clin. Oncol. 1992 ; 10 : 371 – 377)

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour <u>ou</u> 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₇
• fludarabine	25 mg/m ² jour perfusion de 0.5 heure	i.v.	J ₁ – J ₅
<u>ou</u> • fludarabine	20 mg/m ² /jour	i.v.	J ₁ – J ₅
<u>et</u> cyclophosphamide	600 - 1000 mg/m ² /jour	i.v.	J ₁
<u>ou</u> cladribine	0.1 mg/m ² /jour perfusion de 24 heures	i.v.	J ₁ – J ₇

Pour la fludarabine, chaque cycle est répété tous les 28 jours ; pour la cladribine, chaque cycle est répété tous les 35 jours.

3.2.2. de grade de malignité intermédiaire

i)- protocole CHOP ou CNOP

- d'après EM McKelvey et al. (Cancer 1976 ; 38 : 1484 – 1493), J.O Armitage et al. (J. Clin. Oncol. 1984 ; 2 : 898 – 902) , S. Paulovsky et al. (Ann. Oncol. 1992 ; 3 : 205 – 209)

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₅
• cyclophosphamide (c)	750 mg/m ² jour	i.v.	J ₁
• doxorubicine (H)	50 mg/ m ² bolus	i.v.	J ₁
• vincristine (O)	1.4 mg/ m ² bolus (max : 2 mg)	i.v.	J ₁
• prednisone (P)	100 mg/m ² /jour (en 1 dose/jour)	orale	J ₁ – J ₅

pour le protocole CHOP

La mitoxantrone (N) peut être utilisée pour remplacer (protocole CNOP) la doxorubicine chez les patients de plus de 60 ans (dose : 12 mg/m² en bolus i.v. au jour J1 de chaque cycle).

La cure par le protocole CHOP ou CNOP comprend 6 à 8 cycles à raison de 1 cycle tous les 21 jours.

ii)- protocole MACOP-B

- d'après P. Klimo et al. (Ann. Intern. Med. 1985 ; 102 : 596 – 602) et I.A. Cooper et al. (J. Clin. Oncol. 1994 ; 12 : 769 – 778)

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₅ , J ₈ – J ₁₂ J ₁₅ – J ₂₂ , J ₂₉ – J ₃₃ J ₄₃ – J ₄₇ , J ₅₇ – J ₆₁ J ₇₁ – J ₇₅
• methotrexate (M)	100 mg/m ² bolus puis 300 mg/m ² perfusion de 4 heures	i.v.	J ₈ , J ₃₈ , J ₆₄
• leucovorin	15 mg qid	orale	J ₈ , J ₃₇ , J ₆₅
• doxorubicine (A)	50 mg/m ² bolus	i.v.	J ₁ , J ₁₅ , J ₂₉ , J ₄₃ J ₅₇ , J ₇₁
• cyclophosphamide (c)	350 mg/m ² bolus	i.v.	J ₁ , J ₅ , J ₂₉ J ₄₃ , J ₅₇ , J ₇₁
• vincristine (O)	1.4 mg/ m ² bolus (max : 2 mg)	i.v.	J ₈ , J ₂₂ , J ₃₆ J ₅₀ , J ₆₄ , J ₇₈
• prednisone (P)	75 mg/jour	orale	Chaque jour pendant 12 semaines
• bléomycine (B)	10 U/ m ² bolus	i.v.	J ₂₂ , J ₅₀ , J ₇₈

Ce protocole de traitement s'étale sur 12 semaines et correspond à 1 cycle.

iii)- protocole VACOP-B

d'après J.M. Connors et al. (Proc. Am. Soc. Clin. Oncol. 1990

; 9 :254) :

	dose	vole	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₅ , J ₉ – J ₁₂ J ₁₅ – J ₂₂ , J ₂₉ – J ₃₄ J ₄₃ – J ₄₇ , J ₅₇ – J ₆₁ J ₇₁ – J ₇₅
• etoposide (V)	50 mg/m ²	i.v.	J ₁₅ , J ₄₃ , J ₇₁
• etoposide	100 mg/m ²	orale	J ₁₆ , J ₁₇ , J ₄₄ , J ₄₅ J ₇₂ , J ₇₃
• doxorubicine (A)	50 mg/m ² bolus	i.v.	J ₁ , J ₁₅ , J ₂₉ , J ₄₃ J ₅₇ , J ₇₁
• cyclophosphamide (c)	350 mg/m ² jour bolus	i.v.	J ₈ , J ₂₂ , J ₃₆ J ₅₀ , J ₆₄ , J ₇₈
• vincristine (O)	1.2 mg/ m ² bolus	i.v.	J ₈ , J ₂₂ , J ₃₆ J ₅₀ , J ₆₄ , J ₇₈
• prednisone (P)	45 mg/m ² /jour	orale	1/jour pendant 1 semaine, puis 4/jour les 11 semaines suivantes

Chaque cycle durant 12 semaines.

iv)- protocole m-BACOD / M-BACOD

5

- d'après M.A. Shipp et al. (Ann. Int. Med. 1986 ; 140 : 757 – 765) et A.T. Skarin et al. (J. Clin. Oncol. 1983 ; 1 : 91 – 98)

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₅ , J ₈ – J ₁₂ J ₁₅ – J ₁₉
• methotrexate (m) ou (M)	200 mg/m ² perfusion de 4 heures 3000 mg/m ² perfusion de 4 heures	i.v. i.v.	J ₈ , J ₁₅ ou J ₁₅
• leucovorin	10 mg/m ² qid (6 doses au total))	orale	J ₈ , J ₁₆ ou J ₁₆
• bléomycine (B)	4 U/m ² bolus	i.v.	J ₁
• doxorubicine (A)	45 mg/m ² bolus	i.v.	J ₁
• cyclophosphamide (C)	600 mg/m ² bolus	i.v.	J ₁
• vincristine (O)	1 mg/ m ² bolus	i.v.	J ₁
• dexaméthasone (D)	6 mg/m ² /jour	orale	J ₃ – J ₅

La cure comportant 10 cycles, à raison de 1 cycle tous les 21 jours.

v)- protocole ProMACE/CytaBOM

- d'après D.L. Longo et al. (J. Clin. Oncol. 1991 ; 9 : 25 – 38) :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₅ , J ₈ – J ₁₂
• cyclophosphamide (C)	650 mg/m ² perfusion de 0.5 heure	i.v	J ₁
• doxorubicine (A)	25 mg/m ² bolus	i.v	J ₁
• étoposide	120 mg/m ² perfusion de 1 heure	i.v	J ₁
• prednisone (P)	60 mg/jour	orale	J ₁ , J ₁₄
• cytarabine	300 mg/m ² bolus	i.v	J ₈
• bléomycine (B)	5 U/m ² bolus	i.v	J ₈
• vincristine (O)	1,4 mg/ m ² bolus	i.v	J ₈
• methotrexate	120 mg/m ² bolus	i.v	J ₈
• leucovorin	25 mg/m ² qid (4 doses au total)	orale	J ₉

La cure comportant 6 à 8 cycles, à raison de 1 cycle tous les 14 jours.

3.2.3. de grade de malignité bas ou intermédiaire

5

i)- protocole de sauvetage ESHAP

- en cas de récurrence ou en cas d'échec du traitement de première ligne, d'après W.S. Velasquez et al. (J. Clin. Oncol. 1994 ; 12 : 1169 – 1176)

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₅
• etoposide (E)	40 mg/m ² perfusion de 2 heures	i.v.	J ₁ – J ₄
• méthylprednisolone (S)	500 mg/jour perfusion de 15 minutes	i.v.	J ₁ , J ₄
• cytarabine (HA)	2000 mg/m ² perfusion de 3 heures	i.v.	J ₅
• cisplatine (P)	25 mg/ m ² /jour bolus perfusion continue de 24 heures	i.v.	J ₁ – J ₄

La cure comportant 6 cycles, à raison de 1 cycle tous les 28 jours.

ii)- protocole de sauvetage MINE

- en cas de récurrence ou en cas d'échec du traitement de première ligne, d'après F. Cabanillas et al. (Semin. Oncol. 1990 ; 17 (Suppl. 10) : 28 – 33)

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₅
• ifosfamide (I)	1330 mg/ m ² perfusion de 1 heure	i.v.	J ₁ – J ₃
• mesna (M)	1330 mg/ m ² dans la perfusion de ifosfamide puis 266 mg/ m ² bolus 4 et 8 heures après chaque dose de ifosfamide	i.v.	J ₁ – J ₃
• mitoxantrone (M)	8 mg/ m ² perfusion de 15 minutes	i.v.	J ₁
• étoposide (E)	65 mg/m ² /jour perfusion de 1 heure	i.v.	J ₁ – J ₃

Ce cycle étant à répéter tous les 21 jours.

3.3. Lymphomes non hodgkiniens : lymphome de Burkitt, lymphome à petites cellules, lymphome lymphoblastique.

3.3.1. Protocole de Magrath

- Les flavonoïdes pourront être associés aux protocoles de Magrath selon les schémas suivants :

i)- cycle 1

- d'après I.T. Magrath et al. (Blood 1984 ; 63 : 1102 – 1111)

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₅ , J ₈ – J ₁₂
• cytarabine	30 mg/m ²	intra- thécale	J ₁ , J ₂ , J ₃ , J ₇
• cyclophosphamide	1200 mg/ m ² bolus	i.v.	J ₁
• methotrexate	12.5 mg/m ² (max : 12.5 mg)	Intra- thécale	J ₁₀
• methotrexate	300 mg/m ² /jour perfusion de 1 heure puis 60 mg/m ² /h perfusion de 41 heures	i.v	J ₁₀ – J ₁₁
• leucovorin	15 mg/m ² bolus qid (8 doses successives)	i.v.	A commencer 42 heures après le début de l'administration de méthotrexate

ii)- cycles 2 à 15

- d'après I.T. Magrath et al. (1984) également

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₃ J ₁₀ – J ₁₁
• cytarabine	45 mg/m ²	Intra- thécale	J ₁ , J ₂ (cycles 2 et 3) J ₁ (cycles 4 et 6)
• Cyclophosphamide (C)	1200 mg/m ² bolus	i.v.	J ₁
• doxorubicine	40 mg/m ² bolus	i.v.	J ₁
• vincristine	1.4 mg/m ² bolus (max : 2 mg)	i.v.	J ₁
• méthotrexate	12.5 mg/m ² (max : 12.5 mg)	Intra- thécale	J ₃ , J ₁₀ (cycles 2 et 3) J ₁₀ (cycles 4, 5, 6)
• méthotrexate	300 mg/m ² perfusion de 1 heure puis 60 mg/m ² perfusion continue de 41 heures	i.v.	J ₁₀ , J ₁₁ (cycles 2 et 6) J ₁₄ , J ₁₅ (cycles 7 – 15)
• leucovorin	15 mg/m ² bolus qid (8 doses consécutives)	i.v.	Commencer à la 42 ^e heure du traitement par méthotrexate

la cure comportant 14 cycles, à raison d'un cycle tous les 28 jours.

3.4 · Macroglobulinémie de Waldenström

5

3.4.1 Protocole CVP

d'après le protocole CVP décrit par M.A. Dimopoulos et al. (Blood 1994 ; 83 : 1452-1459) et C.S. Portlock et al. (Blood 1976 ; 47 : 747-756) :

65

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₅
• cyclophosphamide (C)	300-400 mg/m ² /jour	orale	J ₁ – J ₅
• vincristine (V)	1,4 mg/m ² /jour bolus (max : 2 mg)	i.v.	J ₁
• prednisone (P)	100 mg/m ² /jour	orale	J ₁ – J ₅

la cure étant à poursuivre indéfiniment (1 cycle tous les 21 jours).

3.4.2 Protocole Fludarabine-CdA

d'après H.M. Kantarjian et al. (Blood 1990 ; 75 : 1928-1931) et M.A. Dinopoulous et al. (Ann. Intern. Med. 1993 ; 118 : 195-198) :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₅
• fludarabine	25-30 mg/m ² perfusion de 0,5 heure	i.v.	J ₁ – J ₅

ou

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₇
• cladribine (CdA)	0,09 mg/m ² /jour perfusion continue	i.v.	J ₁ – J ₇

la cure comportant 6 à 12 cycles espacés de 28 jours dans le cas de la fludarabine et 2 cycles espacés de 28 jours également dans le cas de la cladribine.

3.5 Myélome multiple

3.5.1 Protocole MP

d'après R. Alexanian et al. (JAMA 1969 ; 208 : 1680-1685), A. Belch et al. (Br. J. Cancer 1988 ; 57 : 94-99) et F. Mandelli et al. (N. Engl. J. med. 1990 ; 322 : 1430-1434) :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₅
• melphalan (M)	0,25 mg/kg/jour	orale	J ₁ – J ₄
• prednisone (P)	100 mg/jour	orale	J ₁ – J ₄

ou

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₅
• melphalan (M)	9 mg/m ² /jour	orale	J ₁ – J ₄
• prednisone (P)	100 mg/jour	orale	J ₁ – J ₄

la cure comportant au moins 12 cycles, à raison de 1 cycle toutes les 4 à 6 semaines.

3.5.2 Protocole VAD

d'après B. Barlogie et al. (N. Engl. J. Med. 1984 ; 310 : 1353-1356) :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₅
• vincristine (V)	0,4 mg/jour perfusion continue de 24 heures	i.v.	J ₁ – J ₄
• doxorubicine (A)	9 mg/m ² /jour perfusion continue de 24 heures	i.v.	J ₁ – J ₄
• dexaméthasone (D)	40 mg/jour	i.v.	J ₁ – J ₄ , J ₉ – J ₁₂ , J ₁₇ – J ₂₀

5

3.5.3 Protocole MP-interferon α

d'après O. Osterborg et al. (Blood 1993 ; 81 : 1428-1434) :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₅
• melphalan (M)	0,25 mg/kg/jour	orale	J ₁ – J ₄
• prednisone (P)	2 mg/kg/jour	orale	J ₁ – J ₄
• Interféron-alpha	7 MU/m ² /jour	s.c.	J ₁ – J ₅ , et J ₂₂ – J ₂₈

la cure comportant la répétition indéfinie de ce cycle, à raison de 1 cycle tous les 42 jours.

10

3.5.4 Protocole VCAP ou VBAP

d'après S.E. Salmon et al. (J. Clin. Oncol. 1983 ; 1 : 453-461) :

protocole VCAP :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	200-2000 mg/m ² /jour ou 5 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 h	i.v.	J ₁ – J ₅
• vincristine (V)	1 mg/m ² bolus (max : 1,5 mg)	i.v.	J ₁
• doxorubicine (A)	30 mg/m ² bolus	i.v.	J ₁
• prednisone (P)	60 mg/m ² /jour	orale	J ₁ – J ₄
• cyclophosphamide (C)	125 mg/m ²	orale	J ₁ – J ₄

5 protocole VBAP : le cyclophosphamide est remplacé par la carmustine (BCNU), le reste étant identique :

	dose	voie	jours
• carmustine	30 mg/m ² perfusion de 1 heure	i.v.	J ₁

C. TUMEURS DE L'ENFANT - Oncologie pédiatrique

10 Les flavonoïdes peuvent également être incorporés aux protocoles polychimiothérapeutiques de traitement des tumeurs pédiatriques afin d'améliorer l'efficacité antitumorale tout en réduisant la sévérité des effets secondaires grâce à l'action sur le recrutement et la mobilisation des cellules clonogènes et à la possibilité de réduire les doses actives.

1°/ Sarcome d'Ewing / Tumeur neuroectodermale primitive

Les flavonoïdes peuvent être introduits dans le protocole VCR-Doxo-CY-Ifos-Mesna-E (E. D. Bergert et al., J. Clin. Oncol. 1990 ; 8 : 1514 – 1524 ; W.H. Meyer et al., J. Clin. Oncol. 1992 ; 10 : 1737 – 1742) :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	100-200 mg/m ² /jour ou 2 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 heure	i.v.	J ₁ - J ₅ et J ₂₂ - J ₂₇ et J ₄₃ - J ₄₈ et J ₆₃ - J ₆₈
• vincristine	2 mg/m ² bolus (dose maximale = 2 mg)	i.v.	J ₁ , J ₈ , J ₁₅ , J ₄₃
• doxorubicine	30 mg/m ² /jour en perfusion de 24 heures	i.v.	J ₁ - J ₃ , J ₄₃ - J ₄₅
• cyclophosphamide	2,2 g/m ² en perfusion de 0,5 heure	i.v.	J ₁ - J ₄₃
• ifosfamide	1800 mg/m ² /jour en perfusion de 1 heure	i.v.	J ₂₂ - J ₂₆ J ₆₃ - J ₆₇
• mesna	360 mg/m ² en perfusion de 15 minutes à raison de 5 doses toutes les 3 heures	i.v.	administré avec cyclophosphamide et ifosfamide
• étoposide	100 mg/m ² en perfusion de 1 heure	i.v.	J ₂₂ - J ₂₆ J ₆₃ - J ₆₇

la cure comprend 6 à 10 de ces cycles en fonction de la sévérité initiale du sarcome et de l'amplitude de la réponse.

2°/ Leucémie lymphoblastique aigüe de l'enfant**2.1. Chimiothérapie d'induction (jours J₁ - J₃₀)**

Les flavonoïdes peuvent être ajoutés aux protocoles recommandés (P.S. Gaynon et al., J. Clin. Oncol., 1993, 11, 2234-2242 ; J. Pullen et al., J. Clin. Oncol. 1993 ; 11 : 2234 – 2242 ; J. Pullen et al., J. Clin. Oncol. 1993 ; 11 : 839 – 849 ; V.J. Land et al., J. Clin. Oncol. 1994 ; 12 : 1939 – 1945) :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	100-200 mg/m ² /jour ou 2 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 heure	i.v.	J ₁ - J ₅ , J ₈ -J ₁₁ , J ₁₅ -J ₁₈ , J ₂₂ - J ₂₇
• vincristine	1,5 mg/m ² bolus (dose maximale ≡ 2 mg)	i.v	J ₁ , J ₈ , J ₁₅ , J ₂₂
• L-asparaginase	6000 IU/m ²	i.m.	3 fois/semaine pendant 3 semaines
• prednisone	60 mg/m ² en 3 doses/jour	orale	J ₁ à J ₂₈
• daunorubicine	25 mg/m ² /jour en perfusion de 15 minutes	i.v.	J ₁ , J ₈ , J ₁₅ et J ₂₂
• méthotrexate	fonction de l'âge	intrathécale	J ₁₅ , J ₂₈
• cytarabine	fonction de l'âge	intrathécale	J ₁

en fonction du résultat de l'examen de la moëlle osseuse, le passage à la phase de consolidation se fait le jour J₂₈ du protocole de traitement.

5 2.2. Chimiothérapie de consolidation / maintenance

Les flavonoïdes peuvent être introduits dans le protocole de maintenance (P.S. Gaynon et al., J. Clin. Oncol. 1993 ; 11 : 2234 –2242 ; J. Pullen et al., J. Clin. Oncol. 1993 ; 11 : 839 –849 ; V.J. Land et al., J. Clin. Oncol. 1994 ; 12 :1939 –1945) selon le schéma suivant :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	100-200 mg/m ² /jour ou 2 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 heure	i.v.	J ₁ - J ₅ , J ₁₅ - J ₂₀ et J ₉₄ - J ₉₉ , J ₁₀₁ - J ₁₀₈ J ₁₀₈ - J ₁₁₃ , J ₁₂₂ - J ₁₂₇
• cyclophosphamide	1000 mg/m ² en perfusion de 0,5 heure	i.v.	J ₁ , J ₁₅ , J ₁₂₂
• L-asparaginase	6000 U/m ²	i.m.	3 fois/semaine entre J ₉₇ et J ₁₂₂
• cytarabine	75 mg/m ² /jour en perfusion de 15 minutes	i.v./s.c.	une séquence de 4 jours démarrant J ₂ , J ₉ , J ₁₈ , J ₂₃ , J ₁₂₃ , J ₁
• doxorubicine	25 mg/m ² /jour en perfusion de 15 minutes	i.v.	J ₉₄ , J ₁₀₁ , J ₁₀₈
• mercaptopurine	60 mg/m ² /jour	orale	J ₁ -J ₉₃ , J ₁₄₃ à fin de traitement
• méthotrexate	20 mg/m ² /jour	orale	1 fois/semaine entre J ₃₈ et J ₇₂ et entre J ₁₄₃ et la fin du traitement
• prednisone	40 mg/m ² /jour (divisés en 3 doses/jour)	orale	5 jours consécutifs par mois entre J ₁₄₃ et la fin du traitement
• thioguanine	60 mg/m ² /jour	orale	J ₁₂₂ - J ₁₃₅
• vincristine	1,5 mg/m ² bolus (dose maximale = 2 mg)	i.v.	J ₉₄ , J ₁₀₁ , J ₁₀₈ , ensuite 1 fois/mois entre J ₁₄₃ et la fin du traitement
• méthotrexate	fonction de l'âge	intra- thécale	J ₁ , J ₈ , J ₁₅ , J ₂₂ , J ₁₂₃ , J ₁₃₀ puis 1 fois/3mois entre J ₁₄₃ et la fin du traitement

3°/ Leucémie myéloïde aigue de l'enfant

Les flavonoïdes sont ajoutés aux protocoles d'induction et de consolidation / maintenance selon les schémas suivants :

3.1. Chimiothérapie d'induction

D'après Y. Ravindranath et al., J. Clin. Oncol. 1991 ; 9 : 572 –580 ; M.E. Nesbit et al., J. Clin. Oncol. 1994 ; 12 : 127 – 135 ; RJ Wells et al., J. Clin. Oncol. 1994 ; 12 : 2367 – 2377) :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	100-200 mg/m ² /jour ou 2 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 heure	i.v.	J ₁ - J ₅ , J ₁₀ - J ₁₃
• cytarabine	selon l'âge	intrathécale	J ₁
• daunorubicine	20 mg/m ² /jour en perfusion de 24 heures	i.v.	J ₁ - J ₄ , J ₁₀ - J ₁₃
• cytarabine	200 mg/m ² /jour en perfusion de 24 heures	i.v.	J ₁ - J ₄ , J ₁₀ - J ₁₃
• thioguanine	100 mg/m ² /jour divisés en 2 doses/jour	orale	J ₁ - J ₄ , J ₁₀ - J ₁₃
• étoposide	100 mg/m ² /jour en perfusion de 24 heures	i.v.	J ₁ - J ₄ , J ₁₀ - J ₁₃
• dexaméthasone	6 mg/m ² divisés en 3 doses/jour	i.v./orale	J ₁ - J ₄ , J ₁₀ - J ₁₃

ce cycle étant répété à partir de J₂₈.

3.2. Chimiothérapie de consolidation / maintenance

D'après Y. Ravindranath et al., J. Clin. Oncol. 1991 ; 9 : 572 –580 ; M.E. Nesbit et al., J. Clin. Oncol. 1994 ; 12 : 127 – 135 ; R.J. Wells et al, J. Clin. Oncol. 1994 ; 12 : 2367 – 2377) :

	dose	voie	jours
• cytarabine	selon l'âge	Intrathécale	J ₁ , J ₂₈ , J ₅₆
• flavonoïde	100-200 mg/m ² /jour ou 2 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 heure	i.v.	J ₁ - J ₅ , J ₈ - J ₁₃ J ₂₈ - J ₃₃ , J ₅₆ - J ₆₁ J ₈₉ - J ₉₄
• cytarabine	3000 mg/m ² en perfusion de 3 heures toutes les 12 heures	i.v.	J ₁ - J ₂ , et J ₈ - J ₉
• L-asparaginase	6000 IU/m ² 3 heures après la cytarabine	i.m.	J ₂ , J ₉
• Vincristine	1,5 mg/m ² bolus (dose maximale = 2 mg)	i.v.	J ₂₈ , J ₅₆
• Thioguanine	75 mg/m ² /jour	orale	J ₂₈ - J ₈₄
• Cytarabine	75 mg/m ² /jour bolus	i.v.	J ₂₈ - J ₃₁ , J ₅₆ - J ₅₉
• Cyclophosphamide	75 mg/m ² /jour en perfusion de 0,5 heure	i.v.	J ₂₈ - J ₃₁ , J ₅₆ - J ₅₉
• Cytarabine	25 mg/m ² /jour bolus	sc/i.v.	J ₈₉ - J ₉₃
• Thioguanine	50 mg/m ² /jour	orale	J ₈₉ - J ₉₃
• Etoposide	100 mg/m ² /jour en perfusion de 1 heure	i.v.	J ₈₉ , J ₉₂
• Dexaméthasone	2 mg/m ² /jour	orale	J ₈₉ - J ₉₂
• Daunorubicine	30 mg/m ² en perfusion de 15 minutes	i.v.	J ₈₉

4°/ Maladie de Hodgkin de l'enfant

Les flavonoïdes peuvent être ajoutés au protocole MOPP-ABVD selon EA Gehan et al. (Cancer 1990 ; 65 : 1429 – 1437), SP Hunger et al. (J. Clin. Oncol. 1994 ; 12 : 2160 – 2166) et MM Hudson et al. (J. Clin. Oncol. 1993 ; 11 : 100 – 108) :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	100-200 mg/m ² /jour ou 2 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 heure	i.v.	J ₁ – J ₅ et J ₈ – J ₁₂
• mechloréthamine (M)	6 mg/m ² bolus	i.v.	J ₁ , J ₈
• vincristine (O)	1,5 mg/m ² bolus (maximum 2 mg)	i.v.	J ₁ , J ₈
• procarbazine (P)	100 mg/m ² /jour	orale	J ₁ – J ₁₄
• prednisone (P)	40 mg/m ² /jour (divisés en 3 doses/l)	orale	J ₁ – J ₁₄
• doxorubicine (A)	25 mg/m ² /jour en perfusion de 15 minutes	i.v.	J ₂₉ , J ₄₃
• bléomycine (B)	10 U/m ² en perfusion de 15 minutes	i.v.	J ₂₉ , J ₄₃
• vinblastine (V)	6 mg/m ² bolus (maximum 2 mg)	i.v.	J ₂₉ , J ₄₃
• dacarbazine (D)	375 mg/m ² en perfusion de 15 minutes	i.v.	J ₂₉ , J ₄₃

Ce cycle doit être répété 6 fois à raison de 1 cycle toutes les 8 semaines, la cure comportant 6 cycles.

Si une transplantation de moëlle osseuse autologue (autogreffe) est prescrite, le protocole CVB décrit par R. Chopra et al. (Blood 1993 ; 81 : 1137 – 1145), C. Wheeler et al. (J. Clin. Oncol. 1990 ; 8 : 648 – 656) et R.J Jones et al. (J. Clin. Oncol. 1990 ; 8 : 527-537) pourra être mis en œuvre selon le schéma suivant (l'allogreffe ayant lieu le jour J₀) :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	100-200 mg/m ² /jour ou 2 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 heure	i.v.	J ₇ , J ₁
• cyclophosphamide	1800 mg/m ² /jour en 2 perfusions de 1 heure	i.v.	J ₇ , J ₆ J ₅ , J ₄
• carmustine (BCNU)	112 mg/m ² /jour en perfusion de 0,5 heure	i.v.	J ₇ , J ₆ J ₅ , J ₄
• étoposide	500 mg/m ² /jour en 2 perfusions de 1 heure	i.v.	J ₇ , J ₆ J ₅ , J ₄

5°/ Lymphome lymphoblastique de l'enfant

5

Les flavonoïdes pourront également être associés aux protocoles de chimiothérapie d'induction (A.T. Meadows et al., J. Clin. Oncol. 1989 ; 7 : 92 – 99 – C. Patte et al., Med. Ped. Oncol. 1992 ; 20 : 105 – 113 et A. Relter et al., J. Clin. Oncol. 1995 ; 13 : 359 – 372) et de chimiothérapie de maintenance :

5.1 Chimiothérapie d'induction

	dose	voie	jours
• flavonoïde	100-200 mg/m ² /jour ou 2 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 heure	i.v.	J ₁ – J ₅ , J ₁₇ – J ₂₂ , J ₂₄ – J ₂₉
• cyclophosphamide	1200 mg/m ² en perfusion de 0,5 heure	i.v.	J ₁
• cytarabine	selon l'âge	intra- thécale	J ₁
• vincristine	1,5 mg/m ² bolus (maximum 2 mg)	i.v.	J ₃ , J ₁₀ , J ₁₇ , J ₂₄
• prednisone	60 mg/m ² /jour divisés en 3 doses/jour	orale	J ₃ – J ₂₈
• daunorubicin	60 mg/m ² en perfusion de 15 minutes	i.v.	J ₁₇
• L-asparaginase	6000 U/m ² /jour en perfusion de 15 minutes	im	J ₁₇ – J ₃₅ 3 fois/semaine
• Méthotrexate	selon l'âge	intra- thécale	J ₁₇ , J ₃₁

5

5.2 Chimiothérapie de maintenance :

selon le schéma suivant :

	dose	voie	jours
• Flavonoïde	100-200 mg/m ² /jour ou 2 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 heure	i.v.	J ₁ – J ₅ , J ₁₅ – J ₂₀ , J ₂₉ – J ₃₄
• Cyclophosphamide	1000 mg/m ² en perfusion de 0,5 heure	i.v.	J ₁
• Vincristine	1,5 mg/m ² bolus (maximum 2 mg)	orale	J ₁ , J ₅ , (des cycles 2 à 10)
• Méthotrexate	300 mg/m ² /jour (60% en perfusion de 15 minutes et 40% en perfusion de 4 heures)	i.v.	J ₁₅
• Leucovorin	10 mg/m ² /toutes les 4 h	orale	J ₁₅
• Daunorubicine	30 mg/m ² en perfusion de 0,5 heure	i.v.	J ₂₉
• Methotrexate	selon l'âge	intra- thécale	J ₁ , J ₈ , J ₁₅ (cycle 1), puis 1 fois/mois (cycles 2 à 10)

la cure comportant 10 cycles

6°/ Neuroblastome pédiatrique

- 5 Le protocole de polychimiothérapie recommandé Doxo-E-Cy-Pt est adapté de R.P. Castleberry et al. (J. Clin. Oncol. 1992 ; 10 : 1299 – 1304), A. Garaventa et al. (J. Clin. Oncol. 1993 ; 11 : 1770 – 1779) et D.C. West et al. (J. Clin. Oncol. 1992 ; 11 : 84 – 90) :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	100-200 mg/m ² /jour ou 2 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 heure	i.v.	J ₁ – J ₅ , J ₂₈ – J ₃₅ , J ₅₈ – J ₆₅
• doxorubicine	25 mg/m ² /jour en perfusion de 15 minutes	i.v.	J ₂ , J ₃₀ , J ₅₈
• étoposide	100 mg/m ² en perfusion de 1 heure	orale/ naso- gastrique	J ₂ , J ₅ , J ₃₀ , J ₃₃ , J ₅₈ , J ₆₁
• cyclophosphamide	1000 mg/m ² en perfusion de 0,5 heure	i.v.	J ₃ , J ₄ , J ₃₁ , J ₃₂ , J ₅₉ , J ₆₀
• cisplatine	60 mg/m ² en perfusion de 6 heures	i.v.	J ₁ , J ₂₈ , J ₅₈

L'évaluation de la réponse thérapeutique est faite après 9 semaines afin de décider de l'attitude : résection chirurgicale, radiothérapie ou nouvelle chimiothérapie.

5

7°/ Ostéosarcome pédiatrique

Les flavonoïdes peuvent être ajoutés au protocole Doxo-Pt-Mtx-Lcv tel qu'il est décrit par M. Hudson et al. (J. Clin. Oncol. 1990 ; 8 : 1988 – 1997), PA Meyers (J. Clin. Oncol. 1992 ; 10 : 5 – 15), et V.H.C. Bramwell et al. (J. Clin. Oncol. 1992 ; 10 : 1579-1591) :

10

	dose	voie	jours
• flavonoïde	100-200 mg/m ² /jour ou 2 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 heure	i.v.	J ₁ – J ₆ , J ₂₁ – J ₂₈ , J ₂₈ – J ₃₃
• doxorubicine	25 mg/m ² /jour en perfusion de 24 heures	i.v.	J ₁ – J ₃
• cisplatine	120 mg/m ² en perfusion de 6 heures	i.v.	J ₁
• methotrexate	12 mg/m ² /jour en perfusion de 1 heure	i.v.	J ₂₁ , J ₂₈
• leucovorin	100 mg/m ² toutes les 6 heures	orale	J ₂₂ , J ₂₉

8°/ Rhabdomyosarcome de l'enfant

Le protocole Vcr-Dact-CY-Mesna (H. Maurer et al., Cancer 1993 ; 71 : 1904 – 1922 et LR Mandell et al., Oncology 1993 ; 7 : 71 – 83) peut inclure la perfusion i.v. des flavonoïdes selon le schéma suivant :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	100-200 mg/m ² /jour ou 2 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 heure	i.v.	J ₁ – J ₅ , J ₈ – J ₁₂ , J ₂₂ – J ₂₇ , J ₄₃ – J ₄₇
• vincristine	1,5 mg/m ² /jour bolus maximum 2 mg		J ₁ , J ₈ , J ₁₅ , J ₂₂ , J ₂₉ , J ₃₆ , J ₄₃ , J ₅₀ , J ₅₇
• dactinomycin	0,015 mg/kg bolus (dose journalière max : 0,5 mg)	i.v.	J ₁ – J ₅ , J ₂₂ – J ₂₇ , J ₄₃ – J ₄₇
• cyclophosphamide	2,2 g/m ² en perfusion de 1 heure	i.v.	J ₁ , J ₂₂ , J ₄₃
• mesna	360 mg/m ² en perfusion de 1 heure toutes les 3 heures pour 5 doses	i.v.	J ₁ , J ₂₂ , J ₄₃

A la fin de la 9^{ème} semaine de traitement, l'efficacité doit être évaluée pour décider des suites (chirurgie, radiothérapie, poursuite de la chimiothérapie).

9°/ Tumeur de Wilms chez l'enfant

Dans le protocole Vcr – Dact tel qu'il est décrit par GJ D'Angio et al. (Cancer, 1989 ; 64 : 349 – 360) et DM Green et al. (J. Clin. Oncol. 1993 ; 11 : 91 – 95) :

	dose	voie	jours
• flavonoïde	100-200 mg/m ² /jour ou 2 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 heure	i.v.	J ₁ – J ₅ , J ₈ – J ₁₂ puis chaque semaine
• vincristine	2 mg/m ² bolus (dose max : 2 mg)	i.v.	J ₇ puis chaque semaine
• dactinomycine	0,045 mg/kg bolus (P ≤ 30 kg) 1,35 mg/m ² (P > 30 kg) (dose max : 3 mg)	i.v.	J ₁ , puis toutes les 3 semaines

Ce protocole étant démarré après la résection chirurgicale.

En cas de transplantation de moëlle osseuse autologue (auto-greffe) selon A. Garaventar et al. (Med. Pediatr. Oncol. 1994 ; 22 : 11 – 14), le protocole E-Thio-Cy pourra être modifié comme suit

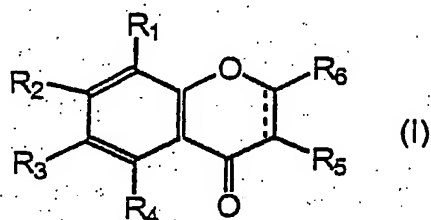
	dose	voie	jours
• flavonoïde	100-200 mg/m ² /jour ou 2 – 50 mg/kg/jour perfusion de 1 heure	i.v.	J ₈ – J ₁
• étoposide	1800 mg/m ² perfusion de 24 heures	i.v.	J ₈
• thiotepa	300 mg/m ² /jour en perfusion de 2 heures	i.v.	J ₇ , J ₈ , J ₅
• cyclophosphamide	50 mg/kg/jour en perfusion de 1 heure	i.v.	J ₄ , J ₃ , J ₂ , J ₁

la transplantation de moëlle osseuse ayant lieu à J₀.

REVENDICATIONS

1. Composition ayant une activité sur la prolifération de cellules clonogènes dans les tumeurs et qui comprend une quantité thérapeutiquement efficace d'un flavonoïde.

2. Composition ayant une activité sur la prolifération de cellules clonogènes dans les tumeurs et qui comprend une quantité thérapeutiquement efficace d'un composé choisi parmi les composés de formule :



formule dans laquelle :

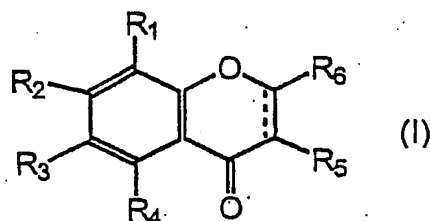
- R_1 , R_2 , R_3 et R_4 sont choisis indépendamment l'un de l'autre parmi H, OH, un groupe alkoxy en C_1-C_4 , un groupe $-OCOR_7$, R_7 étant un groupe alkyle en C_1-C_4 , au moins l'un des substituants R_1 , R_2 , R_3 ou R_4 étant autre que H, et R_2 et R_3 pouvant former ensemble un groupe méthylènedioxy,
- R_5 est choisi parmi H, OH, un groupe alkoxy en C_1-C_4 et un groupe O-glycosyle,
- R_6 est choisi parmi un groupe cyclohexyle, un groupe phényle et un groupe phényle 1 à 3 fois substitué par des groupes choisis parmi H, OH et un groupe alkoxy en C_1-C_4 ,
- et _____ désigne soit une double liaison, soit une simple liaison.

3. Composition selon la revendication 2, dans laquelle le flavonoïde est une flavone.

4. Composition selon la revendication 1, dans laquelle le flavonoïde est la quercétine.

5. Utilisation d'un flavonoïde pour la fabrication d'un médicament destiné à interférer avec la génération de cellules clonogènes dans les tumeurs lors d'un traitement de ces tumeurs par au moins un agent cytotoxique.

6. Utilisation d'un composé choisi parmi les composés de formule :



formule dans laquelle :

- R₁, R₂, R₃ et R₄ sont choisis indépendamment l'un de l'autre parmi H, OH, un groupe alkoxy en C₁-C₄, un groupe -OCOR₇, R₇ étant un groupe alkyle en C₁-C₄, au moins l'un des substituants R₁, R₂, R₃ ou R₄ étant autre que H et R₂ et R₃ pouvant former ensemble un groupe méthylènedioxy,
- R₅ est choisi parmi H, OH, un groupe alkoxy en C₁-C₄ et un groupe O-glycosyle,
- R₆ est choisi parmi un groupe cyclohexyle, un groupe phényle et un groupe phényle 1 à 3 fois substitué par des groupes choisis parmi H, OH et un groupe alkoxy en C₁-C₄,
- et désigne soit une double liaison, soit une simple liaison,
- pour la fabrication d'un médicament destiné à interférer avec la génération de cellules clonogènes dans les tumeurs lors d'un traitement de ces tumeurs par au moins un agent cytotoxique.
7. Utilisation selon la revendication 6, dans laquelle le flavonoïde est une flavone.
8. Utilisation selon la revendication 5, dans laquelle le composé de formule I est la quercétine.
9. Procédé de traitement chimiothérapeutique d'une tumeur chez un patient par au moins un agent cytotoxique, qui comprend l'administration au cours du traitement par l'agent cytotoxique d'une quantité thérapeutiquement efficace d'un flavonoïde.
10. Procédé selon la revendication 9, dans lequel le flavonoïde est administré au début du traitement chimiothérapeutique et au début de chaque cycle de traitement chimiothérapeutique.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PC/FR 99/01714

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 A61K31/35

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DE 297 19 198 U (DEUTSCHES INSTITUT FUER ERNAERHUNGSFORSCHUNG.....) 23 April 1998 (1998-04-23) claims 1-12	1-10
X	EP 0 352 147 A (FONDATION POUR L'ENCOURAGEMENT DE LA RECHERCHE MEDICALE) 24 January 1990 (1990-01-24) claims 1-10	1-3, 5-7, 9, 10
X	EP 0 642 793 A (TSUMURA & CO) 15 March 1995 (1995-03-15) claims 1-8 page 8, line 35 - line 51	1-3, 5-7, 9, 10
	-/-	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

7 October 1999

Date of mailing of the international search report

13/10/1999

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Siatou, E

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 99/01714

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 16, no. 342 (C-0966), 24 July 1992 (1992-07-24) & JP 04 103529 A (TATSUO MIYOSHI), 6 April 1992 (1992-04-06) abstract	1-10
X	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 16, no. 342 (C-0966), 24 July 1992 (1992-07-24) & JP 04 103532 A (TATSUO MIYOSHI), 6 April 1992 (1992-04-06) abstract	1-3, 5-7, 9, 10
X	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 17, no. 391 (C-1087), 22 July 1993 (1993-07-22) & JP 05 070348 A (KUREHA CHEM CO LTD), 23 March 1993 (1993-03-23) abstract	1-3, 5-7, 9, 10
X	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 12, no. 202 (C-503), 10 June 1988 (1988-06-10) & JP 63 002925 A (NIPPON KAYAKU CO LTD), 7 January 1988 (1988-01-07) abstract	1-3, 5-7, 9, 10
X	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 10, no. 56 (C-331), 6 March 1986 (1986-03-06) & JP 60 199817 A (RIKAGAKU KENKYUSHO), 9 October 1985 (1985-10-09) abstract	1-3, 5-7, 9, 10
X	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 8, no. 156 (C-234), 19 July 1984 (1984-07-19) & JP 59 059627 A (TATSUO MIYOSHI), 5 April 1984 (1984-04-05) abstract	1-3, 5-7, 9, 10
X	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 8, no. 134 (C-230), 21 June 1984 (1984-06-21) & JP 59 046217 A (RIKAGAKU KENKYUSHO), 15 March 1984 (1984-03-15) abstract	1-7, 9, 10
X	WO 96 31206 A (WARNER-LAMBERT COMPANY) 10 October 1996 (1996-10-10) claims 1, 2, 5	1, 2

-/--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PC1/FR 99/01714

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	KONOSHIMA T ET AL: "STUDIES ON INHIBITORS OF SKIN TUMOR PROMOTION (V) INHIBITORY EFFECTS OF FLAVONOIDS ON EPSTEIN-BARR VIRUS ACTIVATION. II" JAPANESE JOURNAL OF PHARMACOGNOSY (SHOYAKUGAKU ZASSHI), vol. 43, no. 2, 1989, pages 135-141, XP002037231 the whole document.	1-10
X	MIDDLETON E ET AL: "POTENTIAL HEALTH-PROMOTING PROPERTIES OF CITRUS FLAVONOIDS SEVERAL HEALTH-PROMOTING EFFECTS HAVE BEEN ASCRIBED TO THE FLAVONOIDS ON THE BASIS OF IN-VITRO AND ANIMAL STUDIES" FOOD TECHNOLOGY, vol. 48, no. 11, 1 November 1994 (1994-11-01), pages 115-119, XP000483354 page 116 -page 119	1-10
X	BRACKE M E ET AL: "CITRUS FLAVONOID EFFECT ON TUMOR INVASION AND METASTASIS THE CITRUS FLAVONOID TANGERETIN MAY INHIBIT THE PROCESSES THAT SHORTEN THE LIFE EXPECTANCY OF TUMOR-BEARING PATIENTS" FOOD TECHNOLOGY, vol. 48, no. 11, 1 November 1994 (1994-11-01), pages 121-124, XP000483355 the whole document	1-10
X	BRANDI M L: "FLAVONOIDS: BIOCHEMICAL EFFECTS AND THERAPEUTIC APPLICATIONS" BONE AND MINERAL, vol. 19, no. SUPPL, October 1992 (1992-10), pages S03-S14, XP000671435 the whole document	1-10
X	KONOSHIMA T ET AL: "STUDIES ON INHIBITORS OF SKIN TUMOR PROMOTION (IV)1,2) INHIBITORY EFFECTS OF FLAVONOIDS ON EPSTEIN-BARR VIRUS ACTIVATION (1)" NATURAL MEDICINES (SHOYAKUGAKU ZASSHI), vol. 42, no. 4, 1988, pages 343-346, XP000601362 the whole document	1-10

-/--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PC1/FR 99/01714

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>SCHWARTZ A ET AL: "COMPARISON OF THE EFFECTS OF QUERCETIN WITH THOSE OF OTHER FLAVONOIDS ON THE GENERATION AND EFFECTOR FUNCTION OF CYTOTOXIC T LYMPHOCYTES" IMMUNOPHARMACOLOGY, vol. 7, no. 2, April 1984 (1984-04), pages 115-126, XP002065678 the whole document</p>	1-10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/FR 99/01714

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Observation: Although Claims 9-10 concern a method for treatment of the human/animal body, the search was carried out on the basis of the effects assigned to the product/ composition.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

☐

The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

☐

No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PC./FR 99/01714

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE 29719198 U	23-04-1998	DE 19849652 A	20-05-1999
EP 352147 A	24-01-1990	FR 2633182 A	29-12-1989
		CA 1338325 A	14-05-1996
		DK 310189 A	24-12-1989
		JP 2111725 A	24-04-1990
		US 5145839 A	08-09-1992
EP 642793 A	15-03-1995	JP 6025002 A	01-02-1994
		JP 5331061 A	14-12-1993
		AU 4272293 A	13-12-1993
		CA 2135628 A	25-11-1993
		WO 9323033 A	25-11-1994
JP 04103529 A	06-04-1992	NONE	
JP 04103532 A	06-04-1992	NONE	
JP 05070348 A	23-03-1993	JP 2514500 B	10-07-1996
JP 63002925 A	07-01-1988	NONE	
JP 60199817 A	09-10-1985	JP 1774693 C	14-07-1993
		JP 3061644 B	20-09-1991
JP 59059627 A	05-04-1984	NONE	
JP 59046217 A	15-03-1984	JP 1904754 C	08-02-1995
		JP 6017304 B	09-03-1994
WO 9631206 A	10-10-1996	AU 5259296 A	23-10-1996